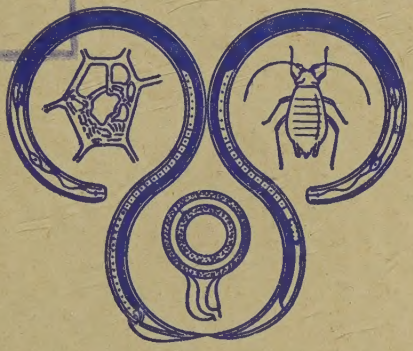
TIJDSCHRIFT OVER PLANTEZIEKTEN

COMMONWEALTH INST.
ENTOMOLOGY LIBRARY
- 8 JAN 1962
SERIAL
SEPARATE Eu.86

JAARGANG 67 - 1961

5e AFLEVERING



Uitgave van de

NEDERLANDSE PLANTEZIEKTENKUNDIGE VERENIGING

Onder redactie van

Dr. J. A. VON ARX, G. H. BOEREMA, Mej. H. L. G. DE BRUYN,
Mevr. Ir. M. POST-BAKKER, Prof. Dr. J. P. H. VAN DER WANT
en Dr. H. H. EVENHUIS (Secretaris)

Redactie-adres: Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek,
Binnenhaven 12, Wageningen

BESTUUR

VAN DE NEDERLANDSE PLANTEZIEKTENKUNDIGE VERENIGING

Dr. P. M. L. Tammes, Wageningen, *Voorzitter*
Dr. J. C. Zadoks, Lab. v. Fytopathologie, Binnenhaven 10, Wageningen, *Secretaris*
Dr. A. P. Kole, Lab. v. Fytopathologie, Binnenhaven 10, Wageningen, *1e Penningmeester*
Postrekening no. 92 31 65 ten name van Penningmeester van de Nederlandse Planteziektenkundige Vereniging te Wageningen
Mevr. Ir. M. Post-Bakker, Lawickse Allee 80, Wageningen, *2e Penningmeesteresse*
Ir. H. J. de Bruin, Wageningen
H. P. Dijksterhuis, Garrelsweer
Dr. J. C. s' Jacob, Wageningen
Ir. J. Walrave, Wageningen
Prof. Dr. J. P. H. van der Want, Lisse

Lidmaatschap Ned. Planteziektenkundige Vereniging

Nederland, Suriname en de Nederlandse Antillen f 7,50, België f 7,50, Buitenland f 8,50. Leden ontvangen het tijdschrift gratis.

Opzegging van het lidmaatschap moet vóór 1 december van het lopende jaar geschieden, anders is de contributie voor het volgende jaar verschuldigd.

Abonnement Tijdschrift

Nederland, Suriname en de Nederlandse Antillen f 10,—, België f 10,—, Buitenland f 13,50. Betaling op postrekening no. 92 31 65 t.n.v. Penningmeester Ned. Planteziektenkundige Vereniging te Wageningen.

Advertentiën

Prijzen per plaatsing: ⅛ pag. f 12,50; ¼ pag. f 20,—; ½ pag. f 30,—; 1 pag. f 55,—.
Bij 3 maal plaatsen van dezelfde advertentie 10 procent korting.
Bij 6 maal plaatsen van dezelfde advertentie 20 procent korting.

Voor plaatsing wende men zich tot de secretaris der Redactie-Commissie, p.a. Binnenhaven 12, Wageningen, tel. 2151, of tot H. Veenman & Zonen N.V., Wageningen, tel. 2242.

INHOUD

HOOFDARTIKELEN blz.

P. C. SCHENK – Biologie en bestrijding van *Urocystis gladiolicola* Ainsw. op gladiolen. *With a summary: Biology and control of* Urocystis gladiolicola *Ainsw. on gladioli* . . 213

G. A. DE WEILLE – L'influence de la radiation ultra-violette proche sur le pouvoir germinatif des conidies de *Peronospora arborescens. Met een samenvatting: De invloed van ultra-violette straling op het kiemingsvermogen van de conidiën van* Peronospora arborescens 317

J. A. DE BOKX – Het toetsen van aardappelknollen op de aanwezigheid van Y^N-virus. *With a summary: Testing of potato tubers for the presence of virus* Y^N 333

VERENIGINGSNIEUWS

Verslag najaarsvergadering te Utrecht, 3 november 1960 343

BOEKBESPREKINGEN

M. G. WARFFEMIUS – Lagere planten en planteziekten in de tuinbouw (A.P.K.) . . 344

Twaalfde Internationaal Symposium over Fytofarmacie en Fytiatrie te Gent, 26 april 1960 (E.) 344

HOOFDARTIKEL

M. HAFEZ – Seasonal fluctuations of population density of the cabbage aphid, *Brevicoryne brassicae* (L.), in the Netherlands, and the role of its parasite, *Aphidius* (*Diaeretiella*) *rapae* (Curtis). *Met een samenvatting: Seizoenfluctuaties van de populatiedichtheid van de koolbladluis,* Brevicoryne brassicae (*L.*), *in Nederland en de rol van haar parasiet,* Aphidius (Diaeretiella) rapae (*Curtis*) 345

T. Pl.-ziekten 67 (1961): 313-416

BIOLOGIE EN BESTRIJDING VAN *UROCYSTIS GLADIOLICOLA* AINSW. OP GLADIOLEN[1]

With a summary: Biology and control of Urocystis gladiolicola *Ainsw. on gladioli*

DOOR

P. K. SCHENK

Laboratorium voor Bloembollenonderzoek te Lisse

INHOUD

1. INLEIDING 317
Aanleiding tot het onderzoek 317
Identiteit en nomenclatuur van de brandschimmel 317
Gladioleteelt 318
2. SYMPTOMEN 320
2.1. ALGEMEEN VOORKOMENDE SYMPTOMEN 320
2.2. BIJKOMENDE VERSCHIJNSELEN 321
Analyse van de aantasting in een vroegbloeiende cultivar . 321
Rustbreking tengevolge van infectie door brand 324
2.3. GELIJKTIJDIGE AANTASTING DOOR ANDERE ZIEKTEN 325
3. BIOLOGIE 326
3.1. HET VERLOOP VAN DE AANTASTING 326
3.1.1. *De Standaardmethode (S.M.) voor het microscopische onderzoek* 326
Methodiek 326
Typering van de aantasting met behulp van de S.M. 327
3.1.2. *Het eerstejaarsstadium (S1 en S1B)* 328
Infectie in natuurlijk besmet plantmateriaal 328
Infectie in besmette grond 329
3.1.3. *Het tweedejaars- en uitgestelde tweedejaarsstadium (S2 en S2U)* 330
Definiëring van de begrippen S2 en S2U 330
De groei van brandmycelium in knollen met laag aantastingscijfer na het planten 332
Het verloop van de aantasting na het planten van knollen met aantastingscijfers variërend van 1 tot en met 4 333

[1] Aangenomen voor publikatie 13 oktober 1961

Het voorkomen van S2U bij vroegbloeiende gladiolen . . 335
Overzicht van het verloop van de aantasting 336
Correlatie tussen het microscopische onderzoek (S.M.) en de waarnemingen te velde 337

3.2. De infectie 337
3.2.1. *De invloed van inoculatiemethode en sporenconcentratie* . . 337
Het inoculum 337
Infectie in kunstmatig besmet plantmateriaal in afhankelijkheid van de plaats van inoculatie 338
Inoculatie van vroegbloeiende cultivars 340
Vorming van sori in de bovengrondse delen in S1 na inoculatie in vacuüm 342
Vergelijking van vacuüm-inoculatie met enige andere inoculatie-methoden 343
3.2.2. *Het tijdstip en de wijze van infectie* 345
Inoculatie op verschillende data in de loop van het groeiseizoen 345
De infectie en het verloop van de aantasting in de eerste maanden van de groei van de gladiool bij optimale bodemtemperatuur 348
De wijze van infectie door *U. gladiolicola* in vergelijking met die door andere brandschimmels 349
3.2.3. *Variatie in het effect van de infectie in S1* 350

3.3. De invloed van het milieu op de onderscheiden stadia . . . 353
3.3.1. *De invloed van enkele cultuurmaatregelen in S1* 353
Invloed van plantdatum, plantdiepte en bemesting op de infectie 353
Invloed van het rooitijdstip op het aantastingstype 353
3.3.2. *De invloed van de temperatuur en het vochtgehalte van de grond in S1* 354
Methodiek 354
Invloed op de groei van de waardplant 355
Invloed op de infectie en het verloop van de aantasting . . 357
3.3.3. *De invloed van de bewaartemperatuur in S1B* 359
3.3.4. *De invloed van de bodemtemperatuur in S2* 361

3.4. De invloed van de verschillende stadia van de ziekte op de groei van de gladiool 364
Invloed van S1 op de groei van de gladiool 364
Mate van aantasting van gladioleknollen in S1 in afhankelijkheid van de grootte 364
Invloed van S2 op de groei van de gladiool 366

3.5. De vatbaarheid van gladiolesoorten en -cultivars 366

3.6. De brandschimmel 369
3.6.1. *De infectie en het mycelium in de waardplant* 369

Sporekieming 369
Infectie en groei van de brandschimmel in gladioleweefsel 370
3.6.2. *De levensduur van de brandsporen* 374

4. BESTRIJDING 375

4.1. MAATREGELEN TER VOORKOMING VAN S1 375
4.1.1. *Grondontsmetting* 375
4.1.2. *Plantgoedontsmetting* 377

4.2. MAATREGELEN TER VOORKOMING VAN S2 378
4.2.1. *Warmwaterbehandeling* 378
Warmwaterbehandeling van kleine knollen van de cultivar "Van Tienhoven". 379
Warmwaterbehandeling van grote knollen van de cultivar "Van Tienhoven" 380
De invloed van tijdsduur en temperatuur op het resultaat van de behandeling met warm water 380
De invloed van de bewaartemperatuur voor en na de warmwaterbehandeling 381
De invloed van sterke uitdroging van de knollen vóór de warmwaterbehandeling 382
Effect van de warmwaterbehandeling op de gladiool . . . 383
Praktische toepassing van de warmwaterbehandeling bij gladiolen vergeleken met die bij tarwe en gerst 384
4.2.2. *Onderdompeling in water en anaërobe behandeling* 385
Tegen stuifbrand in tarwe en gerst 385
Tegen brand in gladiolen 386
4.2.3. *Droge bewaring bij 34 °C* 388
De invloed van de behandelingsduur bij 34 °C 389

4.3. MAATREGELEN TER VOORKOMING VAN S1 EN S2 IN EEN EN DEZELFDE PARTIJ 390
4.3.1. *Het optreden van nieuwe infecties na warmwaterbehandeling* 390
Bestrijding van sporen die de warmwaterbehandeling hebben overleefd 391
4.3.2. *Maatregelen ter voorkoming van S1 en S2 bij kralen* 393
Warmwaterbehandeling van kralen bij 53 en 55 °C 395

4.4. BESTRIJDING BIJ VROEGBLOEIENDE GLADIOLEN 396

SAMENVATTING 401

SUMMARY 406

LITERATUUR 414

Digitized by the Internet Archive
in 2025

https://archive.org/details/european-journal-of-plant-pathology_1961_67_5

1. INLEIDING

Aanleiding tot het onderzoek

De gladiool neemt onder de in ons land geteelde bloembollen en -knollen een steeds belangrijker plaats in. De beplante oppervlakte schommelt sterk van jaar op jaar; in het laatste decennium varieerde zij van 1600 tot 2500 ha. De exportwaarde nam in deze periode toe tot circa *f* 25.000.000, waarvan de Verenigde Staten van Noord-Amerika omstreeks 20% voor hun rekening namen.

Verschillende schimmelziekten vormen een bedreiging voor de cultuur van dit gewas. Jaarlijks gaan honderdduizenden knollen verloren door het optreden van *Fusarium oxysporum* f. *gladioli* (Mass.) Snyder et Hans., *Stromatinia gladioli* (Drayt.) Whetz., *Botrytis gladiolorum* Timmermans en, in afnemende mate, *Septoria gladioli* Pass. De verwekker van de brandziekte, *Urocystis gladiolicola* Ainsw., behoort niet tot deze categorie. Hij komt al tientallen jaren in ons land voor, doch nooit is gebleken dat hij een groot gevaar voor de teelt van gladiolen vormt, evenmin overigens als in de ons omringende landen.

In de jaren na de tweede wereldoorlog werden door de fytosanitaire instanties in de Verenigde Staten, bij inspectie van geïmporteerde gladiolen, in een aantal gevallen door brand aangetaste knollen gevonden. Daar deze ziekte tot op dat moment slechts eenmaal in dat land was waargenomen (MacLean, 1951) en toen met succes was onderdrukt, terwijl geen gegevens bekend waren over de omstandigheden die het optreden bevorderen, vreesde men, dat introductie van de parasiet in Amerika wel eens ernstige gevolgen zou kunnen hebben voor de eigen, zeer belangrijke cultuur (Limber, 1953). Het voorkomen van brand in Nederlandse partijen gladiolen zou dus een bedreiging voor de export naar Amerika kunnen worden. In verband met dit gevaar werden door de Plantenziektenkundige Dienst en de Bloembollenkeuringsdiensten zeer strenge maatregelen getroffen. Partijen waarin te velde meer dan 1% van het aantal planten was aangetast, moesten worden vernietigd. Bij een aantasting van minder dan 1% werden de knollen slechts onder bepaalde voorwaarden vrijgegeven voor export.

De getroffen maatregelen berustten echter niet op een gedegen kennis van de ziekte, waarover geen betrouwbare gegevens bleken te bestaan. Nader onderzoek naar de wijze van infectie, het verloop van de ziekte en de bestrijding was dus zeer gewenst en werd in het Laboratorium voor Bloembollenonderzoek ter hand genomen.

Identiteit en nomenclatuur van de brandschimmel

In 1830 beschreef Duby (zie voor deze en enkele van de volgende auteurs Ainsworth, 1949) de verwekker van een ziekte op gladiolen onder de naam *Uredo gladioli* Requien. Smith (1876) schreef, na overleg met o.a. Brefeld in Berlijn, een rot van gladioleknollen toe aan een brandschimmel, die hij *Urocystis gladioli* Smith noemde. De Toni (1888) veronderstelde dat beide schimmels identiek waren en schiep de naam waaronder de brandziekte van gladiolen lange tijd heeft bekend gestaan: *Urocystis gladioli* (Requien) Smith.

In 1922 stelde Liro voor — op grond van zijn conceptie van het geslacht *Tuburcinia* Fries — de brandschimmel van gladiolen onder de naam *Tubur-*

cinia gladioli (Requien) Liro hierin onder te brengen. De meeste auteurs gaven hieraan echter geen gevolg.

WERNHAM (1938) meende de brandziekte voor het eerst in Amerika te hebben waargenomen. Hij gaf bovendien aan, dat (voor een brandschimmel wel zeer merkwaardig) in vitro reeds na een week "chlamydosporen" werden gevormd. De verwarring werd nog groter toen DODGE & LASKARIS (1941) op grond van hun onderzoek van Amerikaans materiaal tot de conclusie kwamen, dat er bij gladiolen in het geheel geen sprake was van een brandziekte. Alle vroegere auteurs zouden ten onrechte een saprofytische of hoogstens zeer zwak parasitaire schimmel van het geslacht *Papulaspora* voor een brandschimmel hebben gehouden. Dit hield echter geen stand toen HOTSON in 1942, door vergelijking van de Amerikaanse schimmel met Europees herbariummateriaal, aantoonde dat in het laatste geval wel degelijk sprake was van een echte brandzwam.

Het verlossende woord werd door AINSWORTH (1949) gesproken. Hij maakte het aannemelijk, dat *Uredo gladioli* Requien synoniem is met *Puccinia gladioli* Cast. en dat de schimmel die door SMITH werd beschreven een *Papulaspora*-soort is geweest. De laatstgenoemde auteur heeft ook aan deze mogelijkheid gedacht en zijn afbeeldingen komen met die van *Papulaspora* overeen, doch mede op gezag van BREFELD en anderen kwam hij tot de conclusie, dat hier sprake was van een *Urocystis*-soort. AINSWORTH beschreef vervolgens de brandschimmel onder de naam *Urocystis gladiolicola,* waaraan tot nu toe niet is getornd.

Als gevolg van de genoemde verwarring zijn de meeste oudere meldingen van het optreden van deze ziekte onbetrouwbaar. In de volgende landen is de ziekte met zekerheid waargenomen: Engeland (COLLINGE, 1912; PETHYBRIDGE, 1926; MOORE, 1939, 1948), Nederland (VAN POETEREN, 1924, 1925, 1928, 1929; SCHENK, 1958), Duitsland (PAPE, 1927, 1955) en Italië (SCURTI, 1955). In de Verenigde Staten is, zoals reeds werd opgemerkt, de ziekte slechts eenmaal gevonden (MACLEAN, 1951).

Gladioleteelt

Ter wille van een goed begrip van de levenswijze van de desbetreffende brandschimmel is het dienstig hier enige opmerkingen over de cultuur van gladiolen te maken.

Men onderscheidt in dit gewas een vroeg- en een laatbloeiende groep. De belangrijkste vertegenwoordigers van de eerste zijn de cultivars die tot *Gladiolus*×*nanus* en *G.*×*colvillei* worden gerekend. Deze worden meestal omstreeks december geplant en door een dikke laag riet tegen vorst beschermd. Iedere knol vormt, afhankelijk van de grootte, twee tot vijf spruiten, die evenzoveel jonge knollen doen ontstaan. De bloeitijd valt in juni en de rooitijd in augustus.

Tot de laatbloeiende gladiolen behoort de grootste en verreweg belangrijkste groep van de grootbloemige rassen. Deze worden vermenigvuldigd door middel van kralen[1], die in maart-april worden geplant. Het hieruit groeiende

[1] Kralen zijn kleine, door een goed gesloten, harde schub beschermde knolletjes. Morfologisch zijn het bulbillen. Zij worden gevormd aan korte stolonen, die groeien uit het verbindingsstuk tussen de oude en de jonge knol.

gewas vormt meestal geen bloemen. Het wordt in augustus-oktober gerooid en levert dan het zogenaamde plantgoed, waarvan de knolgrootte kan variëren van 2-10 cm omtrek. Het volgende voorjaar (april) worden deze weer uitgeplant om tot een leverbaar produkt (10-14 cm of meer) uit te groeien. In tegenstelling tot de vroegbloeiende gladiolen vormen de knollen van de grootbloemige cultivars slechts een of soms twee op de top ingeplante spruiten. Dit gewas bloeit omstreeks augustus en wordt vanaf de tweede helft van september gerooid. Kralen worden zowel gevormd door planten gegroeid uit kralen, als door die uit knollen. De praktijk spreekt daarom van "kralen van kralen" en "kralen van knollen" en duidt daarmee ook het gewas aan, dat uit deze organen groeit. In het hierna volgende zijn deze termen enkele malen gebruikt.

Voor de bouw en ontwikkeling van de grootbloemige gladioleplant moge naar HARTSEMA (1937) worden verwezen. Fig. 8A (blz. 35) geeft een beeld van de ondergrondse delen.

2. SYMPTOMEN

2.1. ALGEMEEN VOORKOMENDE SYMPTOMEN

In een vroegere publikatie werd reeds meegedeeld, dat het aantastingsverloop van *Urocystis gladiolicola* Ainsw. op gladiolen tweejarig is (SCHENK, 1958). Daarin werd uiteengezet, dat soms aan het eind van het seizoen waarin infectie is opgetreden, symptomen op de knollen kunnen worden waargenomen, terwijl in andere gevallen de infectie uitsluitend microscopisch kan worden onderkend. Uit deze zieke knollen, met al of niet met het blote oog waarneembare symptomen, groeien in het tweede jaar de aangetaste planten.

Macroscopisch zichtbare ziekteverschijnselen ontstaan uitsluitend wanneer de parasiet overgaat tot sporenvorming. De sporen ontstaan in dichte massa's in blad- en stengelweefsel. De hierbij gevormde holten, de sori, zijn gevuld met een donkerbruin tot zwart sporenpoeder, waardoor zij met het blote oog waarneembaar zijn. In de bladachtige delen van de gladioleplant bevinden de sori zich aanvankelijk tussen de nerven; in een later stadium volgt meestal totale desintegratie van het waardplantweefsel.

Als in het eerste jaar infectie heeft plaatsgevonden, kunnen de eventueel in de ondergrondse delen gevormde sori meestal in de loop van september worden gevonden. In het dan nog blanke weefsel van de knolschubben, stolonen en kralen zijn ze zichtbaar als licht- tot donkerloodgrijs doorschemerende, soms iets opgezwollen vlekken. Na verwijdering van de epidermis en eventueel ook van enkele cellagen daaronder, komt de kenmerkende zwarte sporenmassa te voorschijn. De grootte van de sori varieert van nauwelijks met het blote oog waarneembare puntjes, tot grote aaneengesloten plekken (fig. 1c). Vaak ligt een groot aantal kleinere sori groepsgewijs bijeen. Na het rooien, drogen en schoonmaken zijn de schubben van knollen en vooral van kralen donkerder van kleur, zodat eventueel aanwezige sori minder opvallen.

Ook in het knolvlees kunnen dikwijls sori worden gevonden; vaak zijn zij klein, alleenliggend of in groepjes, in andere gevallen echter vormen zij grote holten in het weefsel, veelal op een willekeurige plaats in de knol (fig. 1a).

In het tweede jaar zijn dikwijls al direct na opkomst de eerste verschijnselen van de aantasting zichtbaar. De planten groeien scheef (fig. 1b) en de jonge bladeren vertonen aanvankelijk witachtige strepen, die reeds na enkele dagen, bij het rijpen van de sporen, donker verkleuren op dezelfde wijze als dit door NOBLE (1924) is beschreven voor *Urocystis tritici* op tarwe. Deze ernstig aangetaste planten groeien nog enige tijd door, doch in de loop van de zomer kleuren ze geel en sterven af. Ze rotten weg, waardoor de sporen vrij komen, die dan in de grond achterblijven en tijdens de handelingen bij het rooien ook op de knollen en kralen van gezonde planten terecht komen. Dit laatste is in 1956 het geval geweest bij een partij "Van Tienhoven", waarover eerder werd gepubliceerd (SCHENK, 1958).

In andere gevallen treden de tweedejaars-symptomen echter niet zo snel op. Aanvankelijk groeien de planten normaal en pas in de loop van de zomer wordt duidelijk, dat er iets aan de hand is. Vooral bij tegenlicht zijn de zwarte strepen in het blad dan duidelijk waarneembaar; dikwijls groeien de planten krom en blijft de bloem steken. Sporadisch komt het voor, dat aan een ogenschijnlijk gezonde plant de bloeiwijze wel tot ontwikkeling komt, doch dat de stengel,

de schutbladen en soms zelfs het vruchtbeginsel en de meeldraden sori bevatten (fig. 1D).

Als uiterste geval zijn bovengronds in het geheel geen aanwijzingen te vinden, dat de plant door brand is aangetast, terwijl dan bij het rooien op de ondergrondse delen dezelfde symptomen te zien zijn, die ook aan het einde van het eerste jaar kunnen optreden; dit is het uitgestelde tweedejaarsstadium (S2U), dat in 3.1.3 nader wordt besproken.

Naarmate de ziekte later zichtbaar wordt, ondervindt de groei van de waardplant minder stagnatie.

Zoals hierboven is uiteengezet, blijven de symptomen in het eerste jaar in het algemeen beperkt tot de ondergrondse delen. Bij infectie onder natuurlijke omstandigheden kunnen echter laat in het seizoen in een gewas gegroeid uit kralen, soms al enkele planten met sori in het blad worden aangetroffen. In een dergelijk geval vormen deze planten slechts een fractie van het totale aantal geïnfecteerde planten. Na kunstmatige inoculatie in vacuüm en onder optimale omstandigheden voor het optreden van brand, kunnen ook bij planten uit knollen in september al symptomen in de bladeren worden gevonden, terwijl dan tevens in veel gevallen sori in de bloemaar aanwezig zijn, zoals die ook in het tweede jaar kunnen voorkomen (3.2.1, blz. 25 e.v.).

2.2. BIJKOMENDE VERSCHIJNSELEN

Analyse van de aantasting in een vroegbloeiende cultivar

In 1957 werd een aantal waarnemingen verricht in een partij *G.×nanus* "Peach Blossom", waarin te velde veel planten door brand waren aangetast. De grootte van de geplante knollen bedroeg 6-8 cm.

Op 29 mei werden hiervan 765 planten gerooid en onderzocht op het voorkomen van uitwendig zichtbare symptomen in de spruiten. Uit het samenvattende overzicht in tabel 1 blijkt, dat 32,7% van het totale aantal planten was aangetast. Bij 25% was dit echter slechts zichtbaar in een deel van de spruiten per plant. Uit het hogere gemiddelde aantal spruiten per zieke plant, in

TABEL 1. Het voorkomen van uitwendig zichtbare symptomen in een ernstig door brand aangetaste partij *G.* × *nanus* "Peach Blossom" (29 mei 1957).
The incidence of externally visible smut symptoms in a heavily diseased lot of G. × nanus '*Peach Blossom*' *(29th May, 1957).*

Spruiten van de plant *Sprouts of the plant*	Aantal planten *Number of plants*	%	Aantal spruiten *Number of sprouts*	Gemiddeld aantal spruiten per plant *Mean number of sprouts per plant*
Zonder symptomen *Showing no symptoms*	515	67,3	1494	2,90
Gedeeltelijk met sympt. *Some showing symptoms*	191	25,0	659	3,45
Alle met symptomen *All showing symptoms*	59	7,7	190	3,22
Totaal aantal planten met symptomen *Total number of plants showing symptoms*	250	32,7	849	3,40

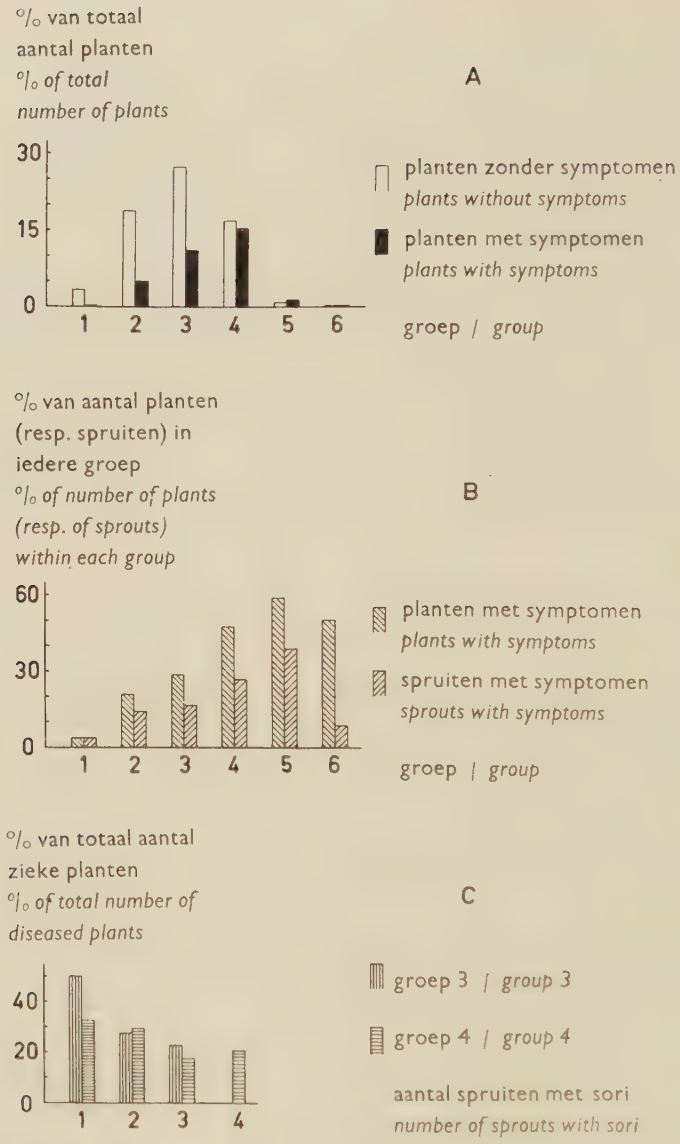


FIG. 2. Analyse van het voorkomen van sori in planten en spruiten van een zwaar aangetaste partij *G. × nanus* "Peach Blossom". Het materiaal is ingedeeld in groepen met eenzelfde aantal spruiten per plant; dit aantal komt overeen met het groepnummer.
Analysis of the presence of sori in plants and sprouts of a heavily diseased stock of G. × nanus '*Peach Blossom*'. *The material is divided in groups with the same number of sprouts per plant; this number corresponds with the number of the group.*

vergelijking met dat van gezonde exemplaren, valt op te maken dat de moederknol tengevolge van de aantasting meer knoppen had doen uitgroeien.

Een nadere analyse van dit materiaal wordt in fig. 2 gegeven, waar een indeling is gemaakt in groepen met eenzelfde aantal spruiten per plant. Planten zonder symptomen in de bladeren waren het talrijkst in de groep met drie spruiten per plant (kortheidshalve aangeduid als groep 3); planten met symptomen kwamen echter het meest in groep 4 voor (fig. 2A). Het percentage zieke planten binnen iedere groep nam toe van 3,7 in groep 1 tot 58,8 in groep 5. De verhouding van het aantal spruiten met sori tot het totale aantal spruiten binnen iedere groep nam in dezelfde volgorde toe van 3,7 tot 38,8% (fig. 2B). Uit het verloop van het percentage zieke planten met toenemend aantal aangetaste spruiten in de groepen drie en vier blijkt tenslotte, dat planten met slechts één zieke spruit het talrijkst waren, terwijl volledige aantasting het minst voorkwam (fig. 2C).

Van 250 ogenschijnlijk gezonde planten van dezelfde partij "Peach Blossom" werden ook de oude en jonge knollen op de aanwezigheid van brandsymptomen onderzocht. Bij acht planten met totaal 24 spruiten werden in negen jonge knollen sori in het knolvlees aangetroffen. Bovendien bleek in twee planten de moederknol sori te bevatten, terwijl toch de spruiten en de jonge knollen geen symptomen te zien gaven. Op grond van deze waarnemingen mag de conclusie worden getrokken, dat bij vroegtijdig verwijderen van alle bovengronds zichtbaar zieke planten, toch een deel van de aantasting in het gewas achterblijft.

TABEL 2. Het voorkomen van macroscopische symptomen in de oude en jonge knollen en spruiten van 13 van de 50 bij het rooien (29 juli 1957) onderzochte planten, twee maanden na de in tabel 1 vermelde analyse. Eind mei waren alle planten met sori in de bovengrondse delen verwijderd.
The incidence of macroscopical symptoms at lifting (29th July, 1957), in the old and young corms and the sprouts of 13 out of 50 plants from the same field as in table 1. All the smutted plants had been removed by the end of May.

	Oude knol *Old corm*	Spruiten *Sprouts* 1		2		3		4		5	
		Jonge knol *Young corm*	Blad *Leaf*	Jonge knol *Young corm*	Blad *Leaf*	Jonge knol *Young corm*	Blad *Leaf*	Jonge knol *Young corm*	Blad *Leaf*	Jonge knol *Young corm*	Blad *Leaf*
1	+	+	+	+	–	–	+	+	+	–	–
2	+	+	+	+	+	–	–				
3	?	+	+	+	+	–	–				
4	+	+	+	+	+						
5	+	+	+	–	–	–	–				
6	+	+	+	+	–	–	–				
7	+	+	–	+	–	–	–				
8	+	+	–	+	–	–	–				
9	–	+	–	+	–	–	–	–	–		
10	–	+	–	+	–	–	–				
11	+	–	–	–	–	–	–	–	–		
12	+	–	–	–	–	–	–				
13	+	–	–	–	–	–	–				

+ : sori gevonden/*sori present*
– : geen sori gevonden/*no sori present*

Tegen de tijd dat men in het algemeen vroegbloeiende cultivars rooit, nl. op 29 juli, werden opnieuw 50 planten onderzocht van veldjes, waaruit eind mei alle zichtbaar aangetaste exemplaren waren verwijderd. Ondanks deze selectie werden toch nog 13 planten met macroscopische symptomen gevonden. Tabel 2 geeft een overzicht van het voorkomen van sori in de verschillende delen van deze planten. Bij zes planten (no's 1 tot en met 6) was de aantasting zichtbaar in de bovengrondse delen van een of meer spruiten, terwijl plant 6 bovendien nog een schijnbaar gezonde spruit met een zieke knol droeg. De volgende vier planten (7 tot en met 10) leken op het eerste gezicht gezond, doch bij nader onderzoek bleek, dat in acht van de dertien jonge knollen sori in het knolvlees waren gevormd; in twee van de vier moederknollen werd geen brand waargenomen. Bij de resterende planten daarentegen (11 tot en met 13) was wel de oude knol aangetast, doch de dochterknollen waren gezond, voorzover dit met het blote oog kon worden nagegaan.

Het hier besproken macroscopische onderzoek van *G.×nanus* "Peach Blossom" kan als volgt kort worden samengevat:

a. Aangetaste knollen vormen meer spruiten per plant dan gezonde.
b. Binnen een partij treedt de ziekte het sterkst op in de groepen met het hoogste aantal spruiten per plant.
c. In de meeste gevallen is slechts een deel van de spruiten van een plant zichtbaar ziek. Planten met één aangetaste spruit zijn talrijker dan die met twee of meer zieke spruiten.
d. Verwijdering van alle planten met een of meer aangetaste spruiten, voor en tijdens het rooien, geeft geen garantie dat de partij vrij van brand is gemaakt.

Rustbreking tengevolge van infectie door brand

Het zojuist voor *G.×nanus* "Peach Blossom" beschreven verschijnsel, dat knoppen die gewoonlijk slapende blijven wel uitlopen als de knol door brand is aangetast, komt ook bij de grootbloemige cultivars dikwijls voor. Kleine knollen (b.v. 4-6 cm) vormen bij deze groep normaal slechts één goed ontwikkelde spruit; als ze door brand geïnfecteerd zijn, groeien echter vaak twee, soms drie spruiten uit en bovendien nog wel eens enkele kleine, eenbladige spruitjes. Sporadisch ontstaan op deze wijze heksenbezemachtige verschijnselen (fig. 3A).

Behalve de knoppen van het vorige jaar kunnen ook pas gevormde vegetatiepunten van kralen en jonge knollen tengevolge van de infectie uitlopen. Bij grootbloemige gladiolen kan zo de ziekte soms in het eerste jaar bovengronds herkend worden aan een klein, aangetast blaadje, dat uit een jonge kraal is gegroeid; de moederplant is dan ogenschijnlijk gezond. Zowel bij de vroegbloeiende als de grootbloemige cultivars ontstaan soms merkwaardige misvormingen van de jonge knollen, wanneer pas gevormde vegetatiepunten voortijdig uitlopen en op hun beurt overgaan tot vorming van knolweefsel (fig. 3B). Ook tijdens de bewaring in de wintermaanden kan het voorkomen, dat de hoofd- en/of zijknoppen van zieke knollen uitlopen onder omstandigheden, waarbij gezonde knollen hier niet toe overgaan. Dikwijls zijn de knoppen dan sterk misvormd, met een begin van knolvorming en met jonge sori in de bladachtige delen (fig. 3C en D).

Het binnendringen van de brandschimmel heeft dus een duidelijk rustbrekend effect. Ook bij andere gewassen heeft men waargenomen, dat na infectie door brand het aantal scheuten toeneemt. Fischer & Holton (1957) geven hiervan een overzicht, waaruit blijkt, dat het verschijnsel bekend is van Gramineae (*Tilletia caries, T. foetida* en *T. contraversa* op tarwe, *Ustilago avenae* op haver, *Sphacelotheca cruenta* en *S. sorghi* op sorghum, *S. destruens* op gierst). Verder vermelden zij een geval bij Compositae (*Ustilago scorzonerae* op schorseneer). Gladiolen zijn de enige vertegenwoordigers van de Iridaceae, waarbij tot nu toe een brandziekte is waargenomen. Deze familie is nu dus de derde waarbinnen het bovenbeschreven verschijnsel is geconstateerd.

2.3. GELIJKTIJDIGE AANTASTING DOOR ANDERE ZIEKTEN

In de loop van het onderzoek werd verschillende malen waargenomen, dat brand kan samengaan met infectie door andere gladioleparasieten.

Tijdens de groei kunnen van spruiten met brandsori de blad- en stengeldelen juist bij het grondoppervlak wegrotten tengevolge van aantasting door *Botrytis gladiolorum,* waarbij dikwijls de sclerotiën van deze schimmel kunnen worden gevonden. Bewaarrot, veroorzaakt door dezelfde schimmel, kan ook bij brandknollen optreden. Er zijn zelfs aanwijzingen dat de laatste vatbaarder zijn voor *Botrytis* dan gezonde knollen. In het voorjaar van 1958 bleek namelijk van een partij "Firmament" 50% van het aantal knollen met brandsori geheel door *Botrytis* te zijn doorwoekerd, terwijl dit slechts bij 2% van de exemplaren zonder brandsymptomen het geval was.

De cultivars uit de groep van de vroegbloeiende gladiolen worden dikwijls aangetast door een *Fusarium*-soort, waarvan niet bekend is of deze met *F. oxysporum* f. *gladioli* identiek is. In 1960 werd in een inoculatieproef waargenomen, dat infectie door deze *Fusarium* vooral op die gedeelten van de knol plaatsvond, waar eerst de brandschimmel was binnengedrongen. Meestal doorwoekerde de eerstgenoemde parasiet het weefsel zeer snel, daarbij *Urocystis* voorbijstrevend en deze verdere groeimogelijkheden ontnemend. Blijkbaar was ook hier de vatbaarheid voor *Fusarium* verhoogd door de aanwezigheid van de brandschimmel. Bij grootbloemige gladiolen werd enkele malen een ongewoon hevige infectie door *F. oxysporum* f. *gladioli* waargenomen in partijen met een hoog percentage brand. Het voorkomen van sori in de schubben ging dan dikwijls samen met een hevige *Fusarium*-aantasting van het knolvlees.

In door *Urocystis* aangetaste knollen van zowel grootbloemige als vroegbloeiende rassen is enkele malen gelijktijdige infectie door hardrot (*Septoria gladioli*) waargenomen. Bij microscopisch onderzoek bleek het mycelium van beide schimmels gemengd in het knolweefsel voor te komen, soms tezamen met de sclerotiumachtige lichaampjes van de laatstgenoemde parasiet.

Eenmaal werd een zowel door brand als door droogrot (*Stromatinia gladioli*) aangetaste spruit gevonden.

Blijkbaar wordt dus geen van de verwekkers van belangrijke gladioleziekten door de aanwezigheid van *Urocystis*-mycelium gehinderd; in sommige gevallen zijn er zelfs aanwijzingen dat brandzieke knollen vatbaarder zijn voor infectie door andere schimmels.

3. BIOLOGIE

3.1. HET VERLOOP VAN DE AANTASTING

3.1.1. *De standaardmethode (S.M.) voor het microscopische onderzoek*

Methodiek

Bij veel brandziekten is de parasiet na het tot stand komen van de infectie kortere of langere tijd latent aanwezig. Dit wil zeggen dat het mycelium, zonder tot sporenvorming over te gaan, zich in de waardplant heeft gevestigd, doch haar groei niet of nauwelijks beïnvloedt. Bij de stuifbranden van tarwe en gerst (*Ustilago tritici* en *U. nuda*) heeft men zich veel moeite getroost om methoden te ontwikkelen, die waarneming van het latente mycelium in het embryo mogelijk maken. Het is vooral het onderzoek van Popp (1951, 1958, 1959) geweest, waardoor thans op vrij grote schaal zaadmonsters microscopisch op de aanwezigheid van stuifbrand kunnen worden gecontroleerd. In 1958 beschreef Gaskin een methode om de uitbreiding van het mycelium van *Ustilago syntherismae* in planten van *Panicum sanguinale* na te gaan, door deze op te helderen in een oplossing van chloraalhydraat en te kleuren in lactofenol met katoenblauw.

Enkele maanden later verscheen, onafhankelijk van het werk van Gaskin, de eerste publikatie over het te Lisse verrichte onderzoek omtrent de brandziekte van gladiolen (Schenk, 1958), waarin kort werd aangegeven hoe knolweefsel op aanwezigheid van latent mycelium kan worden gecontroleerd. De methodiek — verder aangeduid als S.M. (standaardmethode) — is ongeveer gelijk aan die van Gaskin en wordt hier uitvoeriger beschreven, daar zij van essentiële betekenis is gebleken voor het begrijpelijk maken van het verloop van de aantasting.

Men snijdt de knollen radiaal door, in het vlak waarin de okselknoppen liggen. Met een scheermes in houder wordt een plak ter dikte van 0,5 tot 0,8 mm van het snijvlak afgeschaafd. Bij groeiende planten kan op deze wijze zelfs een doorsnede worden verkregen van de moederknol met een of meer dochterknollen en enkele stolonen. Ook stukken knolschub of plakjes van stolonen kunnen op de hierna te beschrijven wijze worden geprepareerd. De plakjes worden 5 tot 24 uur in alcohol 95% gefixeerd, daar anders bij de volgende bewerking onvoldoende opheldering plaats vindt. Langdurige bewaring in alcohol moet worden vermeden, omdat deze de kleurbaarheid van het mycelium vermindert. Na afschenken van de fixatievloeistof wordt het ondoorzichtige knolweefsel opgehelderd door enkele minuten opkoken in een geconcentreerde chloraalhydraatoplossing (8 g in 5 ml aqua dest.). Ook deze vloeistof wordt afgegoten, waarna de kleuring geschiedt door de plakjes vier tot vijf minuten te koken in lactofenol met 0,05% katoenblauw. Bij kleincellig weefsel van jonge knollen of extra dikke plakken kan de intensiteit van de kleuring worden verhoogd door ze daarna enkele dagen in de oplossing van de kleurstof te bewaren of door ze op te koken met de dubbele concentratie katoenblauw. In het laatste geval moet hierna nog worden gedifferentieerd door koken in lactofenol zonder kleurstof. Men kan ze vervolgens bij sterke, doorvallende belichting en 70-malige vergroting onder een binoculaire loep op de aanwezigheid van het gemakkelijk herkenbare mycelium controleren.

Typering van de aantasting met behulp van de S.M.

Met behulp van de S.M. werd gevonden, dat de mate waarin en de wijze waarop het brandmycelium in gladioleknollen voor kan komen, sterk varieert. Bij grootbloemige cultivars begint de infectie in de basis van de knol om vandaar uit verder in het weefsel door te dringen. De schimmel vertoont daarbij een duidelijke voorkeur voor de stele en de bladspoorbundels, doch vooral tijdens de groei van de jonge knol vestigt hij zich ook in het parenchymatische schorsweefsel. Bij de vroegbloeiende rassen komt dit ook het meest voor, doch soms treedt hier een afwijkend aantastingsbeeld op, waarbij de parasiet is binnengedrongen via een van de knopen hoger op de stengelknol. In dit geval wordt gesproken van een zijdelingse infectie.

Om de mate van aantasting te kunnen vastleggen, worden de volgende typen onderscheiden (zie ook fig. 4).

Type 1: mycelium doorgedrongen tot maximaal $^1/_4$ van de afstand van basis tot top van de knol en uitsluitend eenzijdig in stele of aangrenzend schorsweefsel aanwezig.

Type 2: als type 1, doch het mycelium komt voor over de hele basis van de stele en eventueel ook in het aangrenzende schorsweefsel.

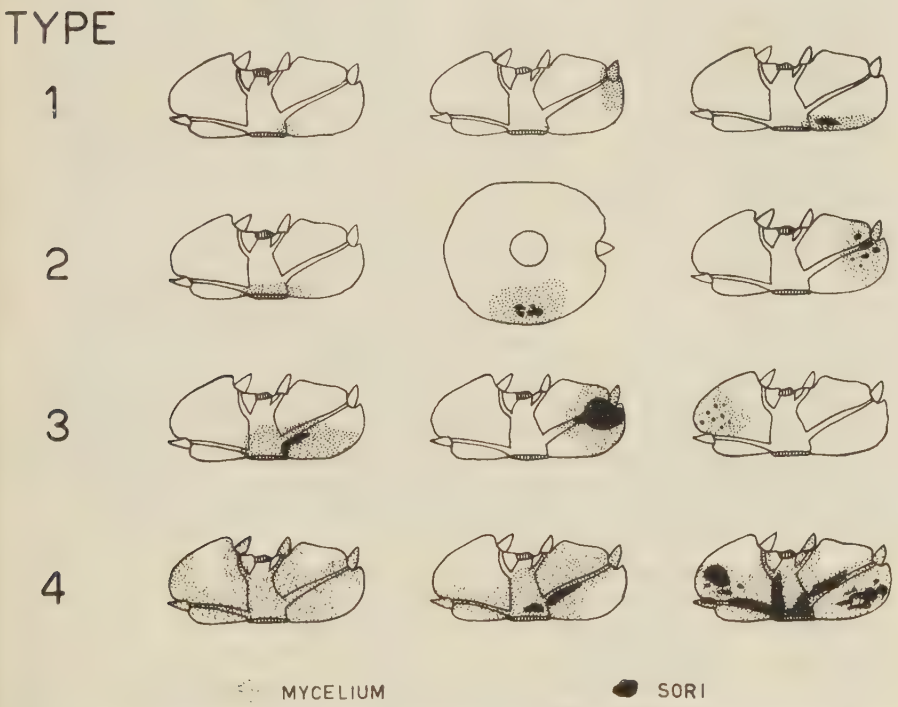


FIG. 4. Aantastingstypen van brand in gladioleknollen, nadat in het voorafgaande groeiseizoen infectie heeft plaatsgevonden. Radiale doorsneden, behalve de middelste knol van type 2, welke dwars is gesneden.
Infection types of smut in gladiolus corms, following infection in the preceding growing season. Radial sections, except the second corm of type 2, which is a cross section.

Type 3: mycelium doorgedrongen tot boven $^1/_4$ maar niet hoger dan $^3/_4$ van de afstand van basis tot top van de knol.

Type 4: mycelium aanwezig tot boven $^3/_4$ van de knolhoogte, dikwijls al in de jonge vegetatiepunten terug te vinden.

Bij zijdelingse infecties is de bovenbeschreven typering niet bruikbaar. In dit geval wordt type 1, 2 of 3 gegeven, naar gelang het mycelium vanaf de zijkant van de knol respectievelijk 0 - $^1/_4$, $^1/_4$ - $^2/_4$ of $^2/_4$ - $^3/_4$ van de afstand tot het centrum heeft doorwoekerd. Indien zijdelingse infecties dicht bij de basis van de knol zijn opgetreden, is het meestal niet meer mogelijk ze als zodanig te herkennen.

Jonge aantastingen van het type 1 en zijdelingse infecties kunnen in zeldzame gevallen buiten de radiale snede door de vegetatiepunten vallen en zo ontsnappen aan microscopische waarneming. Bij de bepaling van het percentage knollen met mycelium mag deze mogelijkheid verwaarloosd worden. Wel moet hier nog met nadruk worden gesteld, dat met de S.M., toegepast na het rooien en schoonmaken van de knollen, uitsluitend het aantal gevallen met mycelium in het knolvlees kan worden bepaald. Het totale aantal geïnfecteerde planten is dikwijls hoger, daar infecties in de stolonen en kralen of in de knolschubben er veelal niet in slagen het knolvlees te bereiken (zie 3.2.3, blz. 38).

In de hierna te behandelen proeven werd behoefte gevoeld, de mate van aantasting van de geïnfecteerde knollen uit een partij in een cijfer vast te leggen. Daartoe werd aan iedere zieke knol een cijfer toegekend, dat correspondeerde met het desbetreffende type, b.v. een knol met een aantasting vallende onder type 3 ontving het aantastingscijfer 3. Het gemiddelde aantastingscijfer werd verkregen door de som van de aantastingscijfers te delen door het aantal knollen met mycelium.

3.1.2. *Het eerstejaarsstadium (S1 en S1B)*

Infectie in natuurlijk besmet plantmateriaal

Bij het begin van het onderzoek in 1957 werden enkele proeven opgezet om na te gaan hoe infectie door *U. gladiolicola* tot stand kan komen. Knollen en kralen van de cultivar "Van Tienhoven", die vrijwel geen macroscopische symptomen vertoonden en bij onderzoek volgens de S.M. slechts voor een zeer laag percentage mycelium bleken te bevatten, doch die alle wel uitwendig met brandsporen waren besmet, werden op onbesmette grond uitgeplant. Uit de resultaten, die vroeger reeds werden gepubliceerd (Schenk, 1958), konden de volgende conclusies worden getrokken.

Uitwendig op knollen en kralen aanwezige brandsporen kunnen tijdens het groeiseizoen aanleiding geven tot infectie. De groei van de planten wordt daar niet merkbaar door beïnvloed. Tegen de rooitijd kunnen soms macroscopische symptomen in de knolschubben en de stolonen worden waargenomen. Microscopisch (S.M.) kan in gezond schijnende knollen toch dikwijls het mycelium van de parasiet worden aangetoond. Aantasting van de bovengrondse delen vindt eerst plaats in het tweede jaar, wanneer knollen die mycelium bevatten worden geplant.

In het vervolg wordt het eerste deel van de aantasting het *eerstejaarsstadium* genoemd en aangeduid door het symbool S1. De aantasting kan zich tijdens de

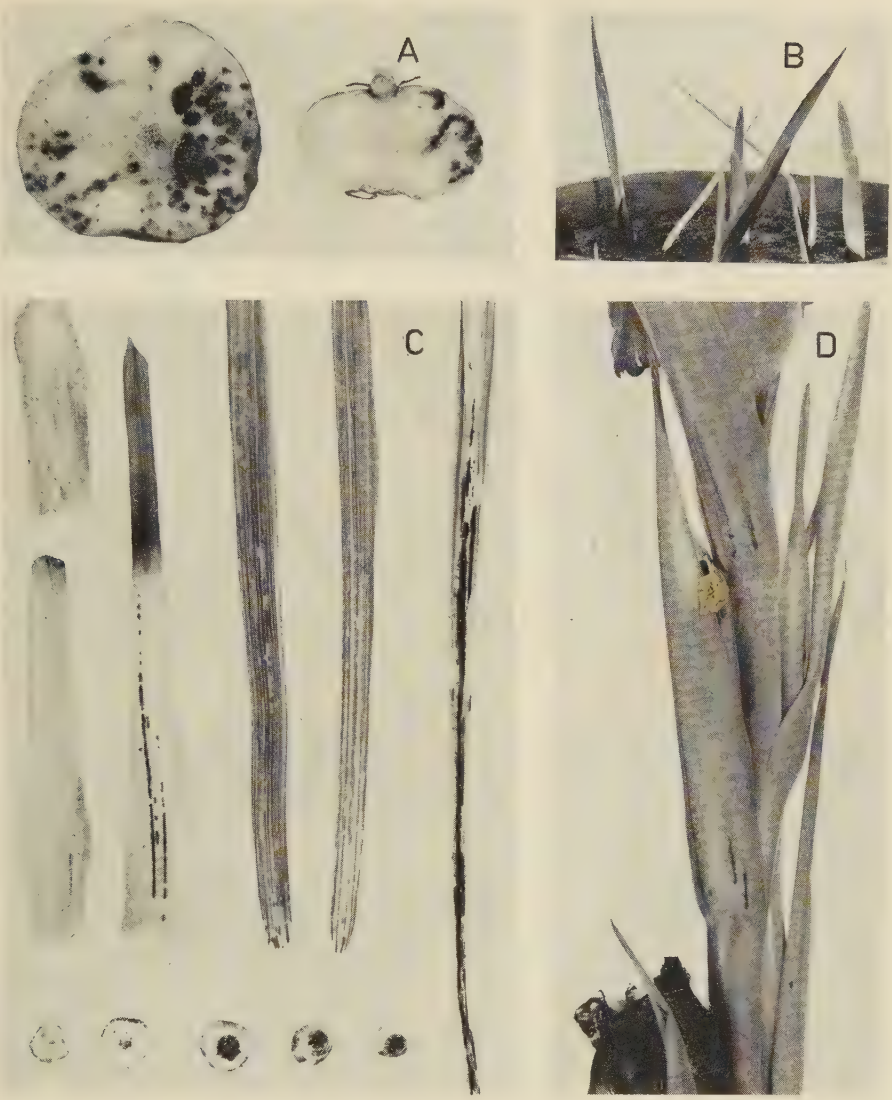


FIG. 1. Brandsymptomen in planten en knollen van de gladiool.
A: sori in het knolvlees van een vroegbloeiende cultivar.
B: scheef groeiende planten uit aangetaste knollen van een grootbloemige cultivar.
C: sori in het jonge knolvlees en de bladachtige delen van een door brand aangetaste spruit van *G.* × *nanus* "Peach Blossom" (links: drie schedebladen; midden: twee bladscheden; rechts: doorgesneden bloemsteel).
D: sori in de bloeiwijze van een grootbloemige cultivar.
Smut symptoms in plants and corms of gladiolus.
A: sori in the corm flesh of an early flowering cultivar.
B: malformation of plants growing from diseased corms of a large-flowered cultivar.
C: sori and in the flesh of the young corm (below) in the leaves and in the cut flower stalk (from left to right) of the early flowering cultivar 'Peach Blossom'.
D: sori in the inflorescence of a large-flowered cultivar.

FIG. 3. Misvormingen tengevolge van de aantasting door brand.
A: heksenbezem-achtige groei.
B: voortijdig uitlopen en knolvorming door pas gevormde knoppen.
C en D: als B, doch tijdens de bewaarperiode.
Malformations caused by smut infection.
A: symptoms of witches' broom.
B: premature sprouting and corm formation by newly formed buds.
C and D: the same as B, but during storage.

bewaring van de knollen verder uitbreiden. Deze fase in het verloop van de aantasting wordt aangeduid met het symbool S1B. De daarop volgende stadia S2 en S2U zullen later worden gekarakteriseerd (3.1.3, blz. 18).

Infectie in besmette grond

Op 1 mei 1957 werden gezonde, onbesmette kralen en knollen van de vatbare cultivar "Dr. Fleming" geplant op een perceel, waar in 1956 een partij „Van Tienhoven" had gestaan met 17,6% door brand aangetaste planten. De zieke exemplaren waren in de loop van het seizoen gaan rotten, waardoor de sporen waren vrijgekomen. Uit een hiertoe ingesteld onderzoek[1] bleek, dat het terrein (een grofkorrelige zandgrond) vrij homogeen met sporen was besmet. Eerst zullen de resultaten van het onderzoek aangaande planten uit knollen worden behandeld; vervolgens zal de infectie bij planten uit kralen worden besproken.

De planten uit knollen groeiden geheel normaal en gaven geen bovengronds zichtbare brandsymptomen te zien. Op 15 augustus werden 50 planten gerooid en nauwkeurig onderzocht op het voorkomen van macroscopische symptomen in de ondergrondse delen, welke evenwel niet werden gevonden. Bijna zes weken later, op 23 september, werden weer 25 planten onderzocht. Bij 23 hiervan bleken nu sori aanwezig te zijn in de knolschubben en/of de kralen en stolonen. De sori kwamen onafhankelijk van elkaar in de genoemde delen voor. In betrekkelijk korte tijd was dus een zeer hevige, met het blote oog waarneembare aantasting ontstaan.

Microscopisch onderzoek van een drietal planten met symptomen toonde aan, dat het mycelium hier was doorgedrongen tot in het verbindingsstuk tussen oude en jonge knol en in een geval reeds in de basale delen van het jonge knolweefsel.

Na het rooien, drogen en schoonmaken van het resterende gedeelte van de partij werden de knollen met en zonder sori in de schubben gescheiden en geteld. Er bleken op een totaal van 549 knollen 187 (34%) met en 362 (66%) zonder macroscopische symptomen voor te komen. Vervolgens werd met behulp van de S.M. bepaald, in welke mate in beide groepen mycelium van de brandschimmel in het knolvlees voorkwam. Dit leverde het volgende resultaat (tussen haakjes het aantal onderzochte knollen): knollen met sori in de schubben: 62% met mycelium (55); knollen zonder sori in de schubben: 49% met mycelium (75).

Dit vormt enerzijds een bevestiging van hetgeen bij de partij "Van Tienhoven" werd gevonden (Schenk, 1958), daar schijnbaar gezonde knollen dikwijls toch aangetast bleken te zijn. Anderzijds kon thans bij "Dr. Fleming" in veel knollen met schubsori geen mycelium worden aangetoond, hetgeen bij "Van Tienhoven" wel steeds het geval was. In 3.2.3 op blz. 38 e.v. wordt hier nader op ingegaan.

Zowel bij "Van Tienhoven" als "Dr. Fleming" bleken de aangetaste knol-

[1] Hiertoe werden grondmonsters van enige cm^3 met water geschud. Na het bezinken van de gronddeeltjes werd de bovenstaande vloeistof afgeschonken en bij laag toerental gecentrifugeerd. In het neerslag werden bij microscopisch onderzoek talloze brandsporen aangetroffen. Deze werkwijze leverde op met brandsporen besmette zavel- en humusrijke zandgronden toegepast, geen betrouwbare resultaten op.

len van knollen bij onderzoek na het rooien vrijwel uitsluitend te behoren tot de aantastingstypen 1 en 2.

Bij de planten uit kralen kwamen op 13 september 1957 enkele exemplaren met sori in de bladeren voor. Dit dus in tegenstelling tot wat bij de zojuist beschreven proef met planten uit knollen werd geconstateerd. Voor nader onderzoek werden 47 planten gerooid, waaraan het volgende werd waargenomen:

29 planten hadden geen symptomen in enig plantedeel,
15 planten vertoonden uitsluitend sori in de knolschubben,
3 planten lieten tevens sori in bovengronds bladweefsel zien.

Bij microscopisch onderzoek van de drie laatstgenoemde planten bleek, dat de aantasting van alle jonge knollen van het type 4 was, terwijl het mycelium via de schedebladen en bladscheden in directe verbinding stond met de sori in de hogere delen. Bij zes planten met uitsluitend schubsori werd in alle gevallen de parasiet ook in het knolvlees aangetroffen, waarbij de mate van aantasting varieerde van type 1 tot en met 4. Bij onderzoek van tien knollen zonder sori werd geen schimmel in het knolvlees waargenomen. Uit dit onderzoek bleek dus, dat bij planten van kralen de parasiet dikwijls veel verder in de jonge knol en eventueel zelfs al in de bladeren was doorgedrongen dan bij de overeenkomstige grote planten.

3.1.3. *Het tweedejaars- en uitgestelde tweedejaarsstadium (S2 en S2U)*

Definiëring van de begrippen S2 en S2U

Naar wij zagen kan het aantastingstype in S1 van jonge, pas gerooide knollen variëren van 1 tot en met 4. Onder 3.3.3 (blz. 47 e.v.) wordt besproken hoe de bewaartemperatuur gedurende het winterhalfjaar van invloed is op de groei van het mycelium in de knollen in rust. In knollen met een laag aantastingscijfer groeit de schimmel bij temperaturen tussen 13 en 20 °C in de loop van enkele maanden door tot in de top van de jonge knol. Thans zal aandacht worden besteed aan de invloed van het aantastingstype van de knollen bij het planten op het verdere verloop van de ziekte.

Knollen met schubsori van "Dr. Fleming", afkomstig van een proefveld op besmette grond, werden bewaard bij respectievelijk 9, 17 en 25,5 °C. Microscopische controle (S.M.) vlak voor het planten op 1 maart 1958 wees uit, dat het gemiddelde aantastingscijfer van de zieke knollen respectievelijk 1,4, 3,4 en 2,2 bedroeg. Van elk der drie partijtjes werden 25 knollen in potten geplant en in een warme kas geplaatst.

Reeds direct na opkomst van de planten werden opvallende verschillen waargenomen. Veel planten uit de bij 17 °C bewaarde knollen groeiden scheef, terwijl de planten uit de bij 9 °C bewaarde knollen geen afwijkingen te zien gaven. De knollen bewaard bij 25,5 °C liepen onregelmatig en minder snel uit, waarschijnlijk omdat de rust bij deze hoge temperatuur niet volledig gebroken was. In deze groep werden enkele scheef groeiende planten waargenomen. Op verschillende tijdstippen werd het aantal aangetaste spruiten ten opzichte van het totale aantal bepaald. Bij het beëindigen van de proef werden bovendien alle knollen van spruiten zonder symptomen volgens de S.M. op aanwezigheid van mycelium gecontroleerd. Het resultaat is in tabel 3 samengevat.

TABEL 3. Het verband tussen de bewaartemperatuur, het aantastingscijfer bij het planten (1 maart 1958) en de ontwikkeling van de ziekte.
The relation between the storage temperature, the rate of infection at the time of planting (1st March, 1958) and the development of the disease. Cultivar 'Dr. Fleming'.

Bewaartemperatuur *Storage temperature*	Gemiddeld aantastingscijfer *Mean rate of infection*	Macroscopische symptomen: Spruiten met sori / totaal aantal spruiten op: *Sprouts with sori / total number of sprouts on:* 21 maart *21 March*	14 april *14 April*	20 mei *20 May*	17 sept. *17 Sept.*	Microscopische symptomen (S.M.) op 17 september. Knollen met mycelium / totaal aantal knollen *Corms with mycelium / total number of corms*	Spruiten zonder sori, knollen met mycelium *Sprouts without sori, corms with mycelium*
9 °C	1,4	0/25	4/26	5/26	11/28	17/28	6
17 °C	3,4	12/25	15/25	15/25	15/25	15/25	0
25,5 °C	2,2	3/18	5/21	7/21	10/24	15/24	5

Wanneer bij het planten het mycelium in de top van de knol aanwezig was, werden drie weken daarna reeds 12 van de 25 spruiten aangetast bevonden. Na zes weken was dit aantal opgelopen tot 15. Daarna werd geen verdere toeneming meer geconstateerd, terwijl microscopisch bleek, dat na het rooien ook geen latente infecties aanwezig waren. Bij knollen met een laag aantastingscijfer was het aantal spruiten met sori aanvankelijk gering, om daarna tot aan het einde van de groeiperiode langzaam toe te nemen tot respectievelijk 11 van de 28 en 10 van de 24 spruiten. Bovendien bleek latent mycelium aanwezig te zijn in respectievelijk zes en vijf van de knollen waarvan de spruiten gezond schenen. In al deze knollen was het aantastingstype 4.

Blijkbaar was de schimmel tijdens de groei van de planten uit de basale delen van de bij 9 en 25,5 °C bewaarde moederknollen omhoog gegroeid. In een aantal gevallen was hij erin geslaagd om vroeger of later het groeipunt te bereiken voor de laatste bladeren waren uitgegroeid, zodat bovengronds nog symptomen konden ontstaan. In zes respectievelijk vijf gevallen was dit echter niet gelukt, zodat uitsluitend het jonge-knolweefsel kon worden aangetast. Hier zou dus de parasiet een jaar langer latent aanwezig zijn gebleven, zodat het gehele ziekteproces niet in twee doch in drie jaar zou zijn voltrokken.

Wanneer in het jaar na de infectie spruiten bovengronds zichtbaar zijn aangetast, wordt gesproken van het *tweedejaarsstadium* (S2), terwijl die gevallen, waarin het mycelium een jaar langer latent blijft of hoogstens aanleiding geeft tot het ontstaan van sori in de ondergrondse delen, worden aangeduid met de term *uitgesteld tweedejaarsstadium* (S2U).

Een andere verklaring voor het na het rooien in de knollen gevonden latente mycelium dient nog te worden overwogen. Het uitgangsmateriaal in de zojuist besproken proef bestond uit knollen met schubsori. De hierin aanwezige sporen zouden ook aanleiding tot infecties hebben kunnen geven. Na het rooien is dan niet meer uit te maken of er sprake is van S1, dan wel van S2U. De kans, dat veel nieuwe infecties zijn opgetreden is echter gering, daar deze dan ook gevonden zouden moeten zijn in de nakomelingen van de bij 17 °C bewaarde knollen, hetgeen niet het geval was. Ook de resultaten van de hierna te beschrijven proeven geven nadere aanwijzingen, dat men de bovengenoemde latente aantastingen, althans voor het grootste deel, tot S2U moet rekenen.

De groei van brandmycelium in knollen met laag aantastingscijfer na het planten

Knollen zonder schubsori van dezelfde partij "Dr. Fleming" als die, welke in de zojuist besproken proef is gebruikt, werden gedurende de winter bij 9 °C bewaard. Bij microscopisch onderzoek van 75 knollen (S.M.) vlak na het rooien was gebleken, dat circa 49% mycelium bevatte, waarbij de volgende aantastingstypen waren gevonden: 27 maal type 1, 8 maal type 2, 1 maal type 3 en 1 maal type 4 (gemiddeld aantastingscijfer 1,4). Op 7 mei 1958 werden zowel buiten als in een kas 60 knollen uitgeplant. Tijdens de groei werd op 19 juni, 8 augustus en 30 september een aantal planten op macroscopische symptomen onderzocht, waarbij onderscheid werd gemaakt tussen aantasting van de hoofdspruit (ingeplant op de top van de oude knol) en aantasting van de zijdelings of basaal ingeplante spruiten. Van alle planten waarvan de hoofdspruit bovengronds geen symptomen vertoonde werden de moederknollen en jonge hoofdknollen ook microscopisch (S.M.) onderzocht. De waarnemingen zijn samengevat in tabel 4.

TABEL 4. Groei van brandmycelium in knollen, na uitplanten in een kas en buiten op 7 mei 1958 en de ontwikkeling van S2 en S2U. De meeste knollen met mycelium vertoonden bij het planten het aantastingstype 1 of 2.
Growth of mycelium of the smut fungus in corms ('Dr. Fleming') after planting in the open and in a glass-house on 7th May, 1958, and the development of S2 and S2U. Most of the corms with mycelium showed the infectiontype 1 or 2 at planting time.

Geplant *Planted*	Datum *Date*	Totaal aantal onderzochte planten *Total number of plants examined*	Hoofdspruit in S2 *Main sprout in S2*	Mycelium in oude knol, bijbehorende hoofdspruit zonder sori *Mycelium in the old corm, corresponding main sprout without sori*			
				Aantal[1] *Number*[1]	Gem. aantastingscijfer oude knol *Mean rate of infection of the old corm*	Jonge hoofdknollen met mycelium (S2U) *Young main corms with mycelium (S2U)*	
						Aantal *Number*	Gemiddeld aantast.cijfer *Mean rate of infection*
Buiten	19/6	10	3	3 (0)	1,0	0	–
In the open	8/8	17	2	6 (3)	2,8	1	4,0
	30/9	27	3	12 (7)	3,7	8	2,1
In de kas	19/6	10	3	1 (0)	1,0	0	–
In the glass-house	8/8	15	4	0 (0)	–	0	–
	30/9	26	13	5[2] (0)	3,6	3	2,4

[1] Tussen haakjes het aantal planten met uitsluitend een zijspruit in S2.
In parentheses the number of plants with only a secondary sprout in S2.
[2] Waaronder drie met macroscopische S2U symptomen in de ondergrondse delen.
Three showing macroscopical S2U symptoms in the underground parts.

Wanneer buiten S2-symptomen werden waargenomen, bleek dit vooral later in het seizoen dikwijls uitsluitend in de zijspruiten het geval te zijn, terwijl in de hoofdspruiten geen sori konden worden gevonden. In de kas waren de omstandigheden blijkbaar gunstiger voor een snelle groei van het mycelium, daar hier de S2-symptomen, behalve in een of meer zijspruiten, in alle gevallen ook in de hoofdspruit konden worden waargenomen.

In de loop van het seizoen was vooral in de buiten geplante serie de groei van de parasiet vanuit de basis van de oude knollen mooi te volgen. Dit blijkt uit de toeneming van het gemiddelde aantastingscijfer van de oude knollen en van het aantal jonge hoofdknollen met mycelium. Bij de serie in de kas kwam dit minder duidelijk naar voren, daar hier op 19 juni en 8 augustus weinig of geen planten werden getroffen met een latente aantasting. Het feit, dat op 30 september nog oude knollen werden gevonden met mycelium dat er niet in was geslaagd in de jonge knol door te dringen, bewijst dat de waardplant aan een aantasting met een laag cijfer kan ontgroeien.

Hoofdspruiten met latente infecties moeten tot S2U worden gerekend, ook wanneer de bijbehorende zijspruiten bovengronds sori te zien geven. Op deze wijze was het totale aantal hoofdspruiten in S2U (inclusief de verloren gegane latente aantasting) op 30 september buiten 12, of wel 44% van het aantal planten dat op die datum werd nagezien. Aannemende, dat uitsluitend uit knollen van aantastingstypen 1 en 2 planten kunnen groeien die dit stadium van aantasting vertonen, mochten we op grond van het microscopische onderzoek bij het begin van de proef verwachten, dat circa 47% van de knollen (27 stuks type 1 + 8 stuks type 2 op een totaal van 75) hoofdspruiten met S2U zouden vormen. Onder de omstandigheden die buiten heersten, bestond dus een goede overeenstemming tussen de te verwachten en de werkelijk gevonden waarden, hetgeen pleit voor de juistheid van de genoemde veronderstelling. In de kas werden echter op 30 september maar drie gevallen van echte S2U-planten gevonden, waarbij sterke sorusvorming in de ondergrondse delen was opgetreden, terwijl bij twee planten het mycelium uitsluitend in de oude knollen voorkwam. Zowel het weinige optreden van S2U, als het sterke voorkomen van sori in de ondergrondse delen, is in overeenstemming met het boven geuite vermoeden, dat in de kas de omstandigheden voor een snelle groei van het mycelium veel gunstiger waren dan buiten.

Het verloop van de aantasting na het planten van knollen met aantastingscijfers variërend van 1 tot en met 4

Daar in beide vorige proeven het optreden van nieuwe infecties door aanhangende sporen, hoewel niet waarschijnlijk, toch niet geheel mocht worden uitgesloten, werd in 1959 nogmaals een proef ingezet om het optreden van S2U in afhankelijkheid van de bewaartemperatuur na te gaan. Het ter beschikking staande materiaal bestond uit "Dr. Fleming"-knollen van 11-13 cm. Bij een korte tijd na de oogst uitgevoerd microscopisch onderzoek (S.M.) van een monster, groot 25 knollen, werden er 12 met brandmycelium gevonden, die als volgt over de verschillende aantastingstypen konden worden verdeeld: 2 maal type 1, 1 maal type 2, 4 maal type 3 en 5 maal type 4 (gemiddeld aantastingscijfer 3,0). Gedurende de winter werden 260 knollen bij 5 °C bewaard en een gelijk aantal bij 17 °C. Ter vermijding van nieuwe infecties werden vlak voor het planten op 23 april alle knolschubben zorgvuldig verwijderd, waarna beide partijtjes gedurende een uur werden ontsmet in 1% Aamersil. Tijdens de groei in de zomermaanden werd enkele malen het aantal geheel en gedeeltelijk aangetaste planten bepaald. Na het rooien op 5 oktober werden de ondergrondse delen onderzocht op het voorkomen van S2U-symptomen, terwijl alle hoofdknollen met spruiten zonder sori microscopisch (S.M.) op de

aanwezigheid van latent mycelium werden nagekeken. Het resultaat van deze proef is in tabel 5 samengevat.

TABEL 5. Het optreden van S2 en S2U in de zomer van 1959, in afhankelijkheid van de bewaartemperatuur in de voorafgaande winter, in procenten van het totale aantal planten. Aantastingstypen in een monster van 25 knollen na het rooien in 1958: 2 maal type 1; 1 maal type 2; 4 maal type 3; 5 maal type 4.
The effect of storage temperature in winter on the incidence of S2 and S2U in the following summer (1959), as percentages of the total number of plants. Infection types in a sample of 25 corms ('Dr. Fleming') after lifting in 1958: twice type 1; once type 2; 4 times type 3; 5 times type 4; other corms without mycelium.

Bewaartemperatuur *Storage temperature*	Aantal planten *Number of plants*	Sori in alle spruiten van de plant (I) of in deel daarvan (II) op: *Sori in all sprouts of the plant (I) or only in part of them (II) at:*						Na het rooien/*After lifting*		
		18 juni *18 June*		10 augustus *10 August*		5 oktober *5 October*		Macroscopische S2U-symptomen	Zonder macroscopische S2U-symptomen *Without macroscopical S2U-symptoms*	
		I	II	I	II	I	II		Aantal *Number*	Mycelium in oude knol *Mycelium in old corm*
5 °C	242	32,6	7,9	42,1	3,3	44,6	2,9[1]	5,8[2]	46,7	6,6[3]
17 °C	233	52,8	1,7	54,5	0	54,5	0	0	45,5	0

[1] Totaal 7 planten met 8 grote spruiten zonder S2-symptomen, waaronder 6 met mycelium in de knollen (gemiddeld aantastingscijfer: 3,7).
Total of 7 plants with 8 main sprouts without S2-symptoms; 6 with mycelium in the corms (mean rate of infection: 3.7).

[2] Totaal 14 planten met 17 grote knollen, waaronder 11 met mycelium (gemiddeld aantastingscijfer: 2,9).
Total of 14 plants with 17 big corms; 11 with mycelium (mean rate of infection: 2.9).

[3] Totaal 16 spruiten, waaronder 4 met mycelium in de jonge knol (gemiddeld aantastingscijfer: 2,0).
Total of 16 sprouts, 4 with mycelium in the young corm (mean rate of infection: 2.0).

Na bewaring bij 17 °C gaven alle gevormde spruiten snel S2-symptomen te zien. Op 18 juni waren bijna alle planten uit knollen met mycelium reeds geheel aangetast, terwijl het totale percentage bovengronds zichtbaar zieke planten na die datum niet meer toenam. Na het rooien werden geen — al of niet latente — S2U-aantastingen gevonden. Wanneer de knollen echter gedurende de winter bij 5 °C waren bewaard, bleef het totale aantal planten met S2-symptomen tot aan het einde van het groeiseizoen toenemen (van 40,5% op 18 juni tot 47,5% op 5 oktober). Bij het rooien bleek 5,8% van het totale aantal planten macroscopisch S2U-symptomen te vertonen, terwijl onder de schijnbaar gezonde planten enkele met een latent gebleven S2U-aantasting in de hoofdknollen werden gevonden en een aantal waarbij het mycelium uitsluitend in de moederknol voorkwam. In het laatste geval had de parasiet het jonge weefsel niet tijdig kunnen bereiken en waren de knollen dus aan de ziekte ontsnapt.

Het totale percentage planten met hoofdknollen in S2U plus dat wat aan de ziekte was ontsnapt, bedroeg: 2,9% + 5,8% + 6,6% = 15,3% (dit getal is waarschijnlijk iets te hoog, daar in het percentage 6,6 mogelijkerwijs enkele planten dubbel zijn geteld). Bij het microscopische onderzoek van het uitgangsmateriaal waren 3 van de 25 knollen van de typen 1 en 2, of wel 12%. Ook

in deze proef werd dus weer een zeer goede overeenstemming gevonden tussen het aantal moederknollen met laag aantastingscijfer en het voorkomen van S2U vermeerderd met het aantal planten dat aan de aantasting ontgroeide.

Het voorkomen van S2U bij vroegbloeiende gladiolen

Hierboven werd het optreden van S2U bij grootbloemige gladiolen aangetoond. Het verschijnsel berust hierop, dat bij deze cultivars gewoonlijk slechts een of twee spruiten worden gevormd op de top van de moederknol, zodat in het geval van een aantasting met laag cijfer het mycelium van de brandschimmel nog een zekere afstand moet afleggen, alvorens de jonge spruiten te kunnen aantasten.

Bij de vroegbloeiende gladiolen lopen echter meestal drie of meer knoppen uit, waaronder ook basaal ingeplante, welke onderling gelijkwaardige spruiten vormen. De kans, dat een infectie van het type 1 of 2 latent blijft is in dit geval dus gering, dit temeer daar eventueel aanwezig mycelium rustbrekend werkt op knoppen die anders slapend zouden zijn gebleven. Onder 4.4 (blz. 84 e.v.) zal worden aangetoond, dat in deze groep gladiolen, na ontsmetting van de knollen voor het planten (ter voorkoming van infecties door aanhangende sporen), gecombineerd met het zorgvuldig verwijderen van alle planten met een of meer aangetaste spruiten in het daaropvolgende groeiseizoen, de geoogste knollen vrij zijn van brand. Ook dit wijst erop, dat een knol met mycelium altijd wel een zieke spruit vormt, waardoor de plant als geheel in S2 valt.

Het bovenstaande sluit uiteraard het optreden van S2U bij individuele spruiten niet uit. De macroscopische analyse van aangetaste planten van de cultivar "Peach Blossom" (zie 2.2, blz. 9 e.v.; zie ook fig. 2) doet vermoeden, dat

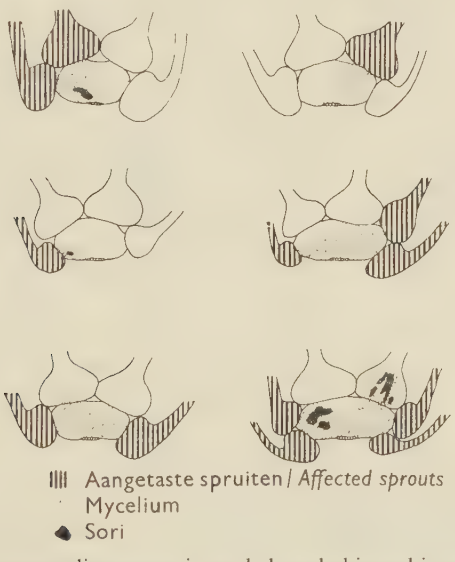


Fig. 5. Verspreiding van mycelium en sori van de brandschimmel in planten van *G.* × *nanus* "Peach Blossom" met een of meer S2-spruiten.
The spread of mycelium and sori of the smut fungus in plants of G. × nanus '*Peach Blossom*' *with one or more S2-sprouts.*

dit verschijnsel hier een belangrijke rol kan spelen. Om dit te bevestigen werd op 26 juni 1958 in een 30-tal aangetaste planten de verspreiding van het mycelium microscopisch nagegaan (S.M.). Fig. 5 geeft een overzicht van enkele karakteristieke gevallen. Bij de in totaal 127 spruiten werden de volgende situaties waargenomen:

Spruiten met S2-symptomen	: 60
Jonge knollen met sori en/of mycelium, spruiten echter zonder S2-symptomen	: 5
Mycelium in de moederknol tot aan het verbindingsstuk met de jonge knol	: 7
Mycelium in de moederknol, doch niet in de nabijheid van de jonge knol	: 55

Wanneer bij de vroegbloeiende cultivars te velde uitsluitend aangetaste spruiten worden verwijderd, zal dus in de geoogste knollen met het voorkomen van S2U rekening moeten worden gehouden.

Overzicht van het verloop van de aantasting

Uit de resultaten van de hiervoor beschreven proeven kan thans een volledig beeld van het verloop van de brandaantasting van gladiolen worden ontworpen. Een schematische weergave daarvan is gegeven in fig. 6, welke geheel voor zichzelf spreekt.

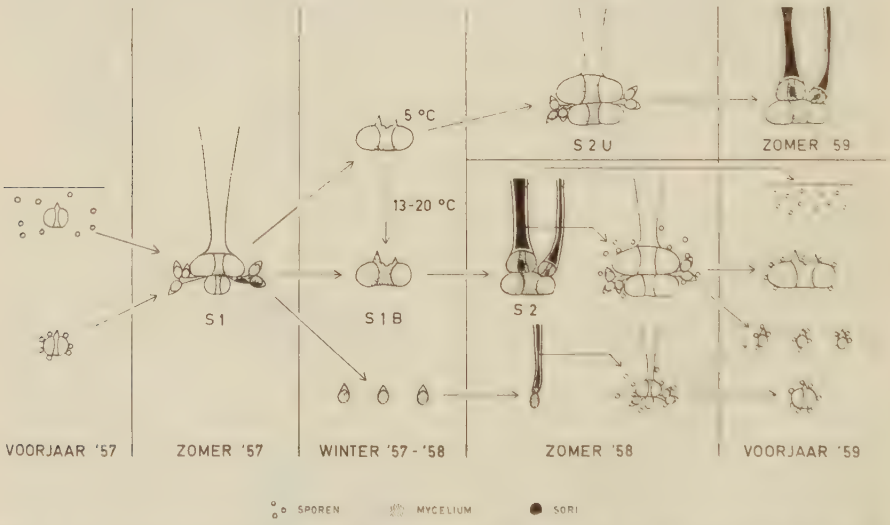


FIG. 6. Schematisch overzicht van het verloop van de aantasting van grootbloemige gladiolen door *Urocystis gladiolicola*. Bij de vroegbloeiende cultivars treedt een verschuiving op van de seizoenen, terwijl S2U daar zelden of nooit voorkomt bij planten in hun geheel, doch uitsluitend bij individuele spruiten.
Schematical view of the infection cycle of Urocystis gladiolicola *on large-flowered gladioli. In the early flowering cultivars a shifting of the seasons occurs, and S2U seldom or never arises in plants as a whole, but only in individual sprouts of diseased plants. Voorjaar = spring; zomer = summer.*

Correlatie tussen het microscopische onderzoek (S.M.) en de waarnemingen te velde

Tenslotte moeten hier nog enkele opmerkingen worden gemaakt over de correlatie tussen het volgens de standaardmethode bepaalde percentage infectie van de knollen en het aantal zieke planten dat te velde kan worden herkend. Bij de partij "Van Tienhoven" bestond een zeer goede overeenstemming tussen de beide waarden (SCHENK, 1958). Bij de grootbloemige gladiolen is dit meestal het geval, zoals uit vele van de hierna te bespreken proeven zal blijken. Een uitzondering moet worden gemaakt voor zieke knollen met een laag aantastingscijfer, waar het percentage S2-planten lager kan liggen dan volgens microscopisch onderzoek (S.M.) zou mogen worden verwacht, dank zij het voorkomen van S2U en het ontgroeien aan latente aantastingen.

Bij de vroegbloeiende gladiolen daarentegen is de aantasting te velde meestal belangrijk lager dan het percentage S1 van de moederknollen zou doen verwachten, zonder dat van S2U sprake is (zie tabellen 26 en 27). Waarschijnlijk moet dit worden toegeschreven aan de verhoogde vatbaarheid van door brand aangetaste knollen voor andere ziekten, waardoor veel knollen met mycelium uitvallen zonder spruiten te hebben gevormd.

Bij stuifbrand van gerst vond POPP (1951) een goede correlatie tussen het microscopische onderzoek en de aantasting te velde. Bij tarwe is dit echter in sterke mate afhankelijk van het tarweras, de fysio van de parasiet, de hoeveelheid mycelium in het embryo en van de interactie waardplant-parasiet in de verschillende ontwikkelingsstadia van de plant. Hij vond een goede overeenstemming, wanneer uitsluitend rekening werd gehouden met het al of niet voorkomen van mycelium in de plumula (POPP, 1959). Bij zogenaamd resistente rassen kunnen dikwijls stuifbrandhyfen in het scutellum worden aangetoond, zonder dat dit leidt tot aantasting van de uitgroeiende plant.

Op grond van statistische gegevens veronderstelde PETIT (1955), dat in embryo's met weinig mycelium de waardplant ontsnapt, terwijl zeer zwaar aangetaste zaden geen of verzwakte kiemplantjes geven.

OHMS & BEVER (1955) vonden dat fysio 11 in het tarweras "Wabash" een overgevoeligheidsreactie veroorzaakte, hetgeen een verminderde stand en een geringe zichtbare brandaantasting tengevolge had. In gestoomde grond was de reductie minder, zodat waarschijnlijk bepaalde bodemorganismen ook een rol spelen. In andere gevallen verklaarden zij de veldresistentie door aan te nemen, dat het mycelium geen gelijke tred kan houden met de groei van de waardplant.

Onafhankelijk van microscopisch onderzoek werd het verschijnsel van de overgevoeligheid van tarwerassen voor stuifbrand voor het eerst door OORT (1944) waargenomen en uitvoerig beschreven.

3.2. DE INFECTIE

3.2.1. *De invloed van inoculatiemethode en sporenconcentratie*

Het inoculum

Tenzij anders vermeld, werd bij alle hierna te bespreken proeven gebruik gemaakt van brandsporen die werden verzameld door bladweefsel met sori na

toevoeging van water in een mixer fijn te slaan. De sporen werden door kaasdoek gezeefd en verder gezuiverd door ze vele malen te laten bezinken en de bovenstaande vloeistof af te schenken en te verversen. Daarna werden zij bij kamertemperatuur gedroogd en in een gesloten fles bij 1-3 °C bewaard. De aldus behandelde sporen behielden het vermogen tot infectie gedurende minstens twee jaar.

In vele proeven werden de gladioleknollen geïnoculeerd door ze in een sporensuspensie met 1% methylcellulose onder vacuüm te brengen. Meestal werd de lucht twee of drie maal afgezogen en opnieuw toegelaten. Daar in het begin na toepassing van deze methode enkele keren zeer zware infectie door *Fusarium oxysporum* f. *gladioli* werd waargenomen, werden naderhand de knollen voor de inoculatie gedurende een of twee uur ontsmet met 2% Aaglitan, waarna zij een nacht in stromend water werden gespoeld.

Infectie in kunstmatig besmet plantmateriaal in afhankelijkheid van de plaats van inoculatie

In 1957 werd een proef opgezet, waarin knollen en kralen op verschillende manieren kunstmatig werden besmet. Als inoculum diende in dit geval een suspensie van brandsporen met 1% methylcellulose, afkomstig van sori in planten van *G. tristis*. Knollen van de cultivars "Dr. Fleming" (4-5 cm) en "Alfred Nobel" (5-6 cm) werden kaal gemaakt, zodat de jonge knoppen onbeschermd lagen. De volgende inoculatiemethoden werden toegepast:

1. De knollen werden geplant met de basis op een watje gedrenkt in de suspensie.
2. De holte om de jonge knop werd gevuld met de suspensie.
3. De knollen werden gedompeld in de suspensie; tevens werden knollen in een suspensie zonder methylcellulose gedoopt.
4. Een druppeltje suspensie werd met een fijne injectienaald in de jonge knop gebracht.
5. Met een kurkboor werd een holte in de knol geboord, van de bovenrand af schuin onder de knop door tot in de stele. Deze ruimte werd gevuld met suspensie en met een houten propje afgesloten.

Op 16 mei werden 25 knollen volgens elk van deze methoden behandeld, in potten geplant en in een kas gebracht. Bovendien werden groepen van 25 gepelde of ongepelde kralen van "Dr. Fleming" uitsluitend volgens methode 3 geïnoculeerd. De eerste maanden na opkomst van de planten werden geen afwijkingen geconstateerd. Op 24 augustus werden drie plantjes van kralen gevonden met sori in de bovengrondse bladdelen, terwijl enkele weken later, op 10 september, ook enkele planten uit knollen symptomen te zien gaven. In de loop van de daaropvolgende twee maanden nam dit aantal nauwelijks toe. In de tweede week van november werden alle planten gerooid en macro- en microscopisch op de aanwezigheid van sori en mycelium onderzocht. De waarnemingen zijn samengevat in tabel 6.

Opvallend is, dat de inoculatiemethoden 1, 4 en 5 in geen enkel geval tot infectie hebben geleid. Blijkbaar was de brandzwam niet in staat direct het oude knolweefsel binnen te dringen, terwijl de afstand tot de wel vatbare, jonge delen van de plant te groot was om infectie mogelijk te maken. Ook

TABEL 6. Invloed van de inoculatiemethode op infectie door brand en het optreden van macro- en microscopische symptomen in S1 bij planten van kralen en knollen van "Dr. Fleming" en "Alfred Nobel".
The effect of different methods of inoculation on infection by the smut fungus, and the appearance of macro- and microscopical symptoms in S1 in plants from corms and cormels ('Dr. Fleming' and 'Alfred Nobel').
Methods of inoculation at time of planting:
1. Suspension of spores at the base of the corms; 2. Suspension of spores in the hollow around the buds; 3. Corms dipped in the suspension; 4. Suspension injected into the bud; 5. Suspension placed in a cavity in the corm flesh, made just below the bud.

Cultivar (grootte) *(circumf. in cm)*	Inoculatie methode (zie blz. 26) *Inoculation method*	Aantal planten *Number of plants*	Macroscopische symptomen		Microscopische symptomen (S.M.)				Aantal niet geïnfecteerde planten *Number of plants not infected*
			In bovengr. delen *In leaves above soil*	Uitsluitend in ondergr. delen *In underground parts only*	Mycelium in jonge knollen *Mycelium in young corms*		Mycelium in oude knollen *Mycelium in old corms*		
					Aantal *Number*	Gemiddeld aantastings-cijfer *Mean rate of infection*	Aantal *Number*	Gemiddeld aantastings-cijfer[1] *Mean rate of infection*[1]	
"Dr. Fleming" (4–5 cm)	1	25	0	0	0	–	0	–	25
	2	25	9	0	20	3,8	19	3,2	5
	3	23	0	0	10	4,0	10	2,1	13
	4	23	0	0	0	–	0	–	23
	5	22	0	0	0	–	0	–	22
"Alfred Nobel" (5–6 cm)	1	24	0	0	0	–	0	–	24
	2	20	12	2	19	3,8	19	2,6	1
	3	22	6	1	10	3,8	11	2,8	11
	4	25	0	0	0	–	0	–	25
	5	25	0	0	0	–	0	–	25
"Dr. Fleming" kralen gepeld *cormels shelled*	3	25	2	3	6	3,9	5[2]	3,6	19
niet gepeld *not shelled*	3	22	1	4	5	4,0	1[2]	3,0	17
"Dr. Fleming" (4–5 cm)	3[3]	25	2	0	5	3,2	5	3,0	20
"Alfred Nobel" (5–6 cm)	3[3]	23	10	0	12	4,0	12	2,8	11

[1] Myceliumgroei in de oude knollen beoordeeld op analoge wijze als in de jonge, doch in dit geval gemeten van boven naar beneden.
Mycelium growth in the old corms was measured in the same way as in the young ones, but in the reverse direction.
[2] Veel rotte knollen/*Many rotted corms.*
[3] Sporensuspensie in water/*Spore suspension in water, in all other cases in 1% methylcellulose.*

sporen die in de jonge knoppen waren gebracht, slaagden er niet in de ziekte te verwekken.

Wanneer de brandsporen buiten om de jonge knop werden aangebracht, bleek een zeer hevige infectie tot stand te komen. Vooral veel planten van "Alfred Nobel" vertoonden dan bovengrondse symptomen. In alle gevallen werden deze uitsluitend gevonden in de binnenste bladen. Blijkbaar was de parasiet er in deze gevallen in geslaagd zo snel in het vegetatiepunt binnen te dringen, dat de laatst gevormde delen waren aangetast voor ze uitgroeiden. Dat de omstandigheden de ziekte begunstigden, blijkt ook uit het hoge aantastingscijfer dat alle jonge knollen, dus ook die zonder macroscopische symptomen, na het rooien te zien gaven. Een interessant verschijnsel is verder, dat de schimmel na de infectie via de jonge delen ook was doorgedrongen in het ondertussen reeds grotendeels leeggezogen weefsel van de moederknol. Dikwijls kon hij zelfs in de basale delen worden waargenomen. Ook in andere infectieproeven is dit vastgesteld en zelfs is een enkele maal geconstateerd, dat hier sori werden gevormd. Dit is een bij brandschimmels weinig voorkomend verschijnsel, daar deze parasieten meestal uitsluitend in jonge weefsels groeien. Opvallend was, dat bij beide cultivars dompelen in de suspensie een minder hevige infectie tot gevolg had dan het toedienen van de sporen in de holte om de jonge spruit. Waarschijnlijk is in het laatste geval de concentratie van sporen in de omgeving van de jonge, vegetatieve delen groter geweest, daar na de dompeling een deel van de suspensie is afgevloeid.

In 1961 werd nogmaals een groot aantal knollen van "Dr. Fleming" (6-8 cm) volgens methode 4 besmet met een suspensie met 10.000 sporen per mm^3. Na de behandeling werd onder een binoculaire loep vastgesteld, dat zich een groot aantal sporen tussen de blaadjes van de knoppen bevond. De op deze wijze besmette knollen werden in bakken geplant, die vervolgens bij de voor het optreden van brand optimale temperatuur van 20 °C werden geplaatst (zie 3.3.2, blz. 45 e.v.). In de daarop volgende maanden werden enige malen vijf tot tien planten microscopisch onderzocht. Ook in deze proef werden geen aanwijzingen gevonden, dat de schimmel er in was geslaagd in de waardplant binnen te dringen. Het is dus vrijwel uitgesloten, dat brandsporen op deze wijze in de jonge knoppen gebracht, infectie tot stand brengen.

Inoculatie van vroegbloeiende cultivars

Nadat in 1957 het verloop van de aantasting van grootbloemige gladiolen door *U. gladiolicola* in grote lijnen bekend was geworden, werd in de daaropvolgende winter een inoculatieproef met een tweetal vroegbloeiende cultivars opgezet; enerzijds met het doel om na te gaan of ook in dit geval het ziekteproces in principe twee jaar duurt, anderzijds om de invloed van de inoculatiemethode en de sporenconcentratie te bestuderen.

Van de cultivars "Spitfire" en "Peach Blossom" werden op 3 januari 1958 telkens 25 knollen geïnoculeerd door deze enkele minuten te roeren in een brandsporensuspensie met 1% methylcellulose of door ze in de suspensie enkele malen onder vacuüm te brengen. Dit werd gedaan met inocula, die respectievelijk 300, 30 en 3 sporen per mm^3 bevatten. Enkele dagen later werden alle partijtjes buiten uitgeplant, tezamen met 25 onbehandelde knollen van beide rassen. In de loop van het groeiseizoen werden de planten onderzocht op het voorkomen van sori in de bladeren, terwijl na het rooien de geoogste

knollen werden nagekeken op macro- en microscopische symptomen. De waarnemingen zijn vermeld in tabel 7.

TABEL 7. Invloed van de inoculatiemethode en de sporenconcentratie op infectie door brandsporen bij de vroegbloeiende gladiolen "Spitfire" en "Peach Blossom". Knollen geroerd in de suspensie (D) of onder vacuüm in de suspensie gedompeld (V); 25 knollen per behandeling.
The effect of the method of inoculation and spore concentration on infection by smut spores in the early flowering gladioli 'Spitfire' and 'Peach Blossom'. Corms inoculated either by stirring them for a few minutes in a spore suspension in 1% methylcellulose (D), or by placing them in a vacuum in the same medium (V); 25 corms per treatment.

Cultivar	Inoculatiemethode en aantal sporen per mm³ *Inoculation method and number of spores per mm³*	S2-symptomen	Gerooid aantal knollen *Number of corms lifted*	Aantal met sori in de knolschubben *Number with sori in the corm scales*	Monsters van 25 knollen per object *Samples of 25 corms per treatment*		
					Sori in het knolvlees *Sori in the corm flesh*	Microscopisch (S.M.)	
						Aantal met mycelium *Number with mycelium*	Gemiddeld aantastingscijfer *Mean rate of infection*
"Spitfire"	D 300	0	72	6	3	7	2,3
	D 30	0	88	1	1	1	4,0
	D 3	0	80	0	0	0	–
	D totaal	0	240	7	4	8	2,5
	V 300	0	88	5	7	9	3,2
	V 30	0	81	3	3	6	2,2
	V 3	0	76	0	0	0	–
	V totaal	0	245	8	10	15	2,8
"P. Blossom"	D 300	2	65	10	8	17	2,7
	D 30	0	101	5	3	8	2,4
	D 3	1	83	1	1	2	2,5
	D totaal	3	249	16	12	27	2,6
	V 300	1	63	14	17	22	2,9
	V 30	1	101	8	8	12	2,3
	V 3	1	85	1	1	1	3,0
	V totaal	3	249	23	26	35	2,7
"Spitfire"	onbeh. *control*	0	86	0	0	0	–
"P. Blossom"	onbeh. *control*	1	73	0	0	0	–

Uitsluitend bij "Peach Blossom" werden enkele planten met bovengronds zichtbare symptomen waargenomen. Daar echter ook een plant in de controle sori in de bladeren had, moet worden aangenomen, dat enkele moederknollen van "Peach Blossom" bij het planten latent mycelium bevatten. De verschijnselen na het rooien wijzen uit, dat het aantastingsverloop van brand ook in deze groep gladiolen in principe tweejarig is.

De methode van inoculatie had een duidelijke invloed op het optreden van de infectie. Na inoculatie in vacuüm kwamen knollen met macroscopische S1-symptomen talrijker voor, terwijl ook het totale aantal knollen met mycelium groter was dan na dompelen zonder meer. Het voorkomen van macro- zowel als microscopische symptomen was ook in sterke mate afhankelijk van de ge-

bruikte sporenconcentratie. Met drie sporen per mm^3 was bij "Spitfire" in het geheel geen infectie tot stand gekomen en bij "Peach Blossom" slechts een zeer geringe, terwijl bij 300 sporen per mm^3 het percentage aangetaste knollen na vacuüm-inoculatie circa 36% bedroeg in het eerstgenoemde ras en circa 88% in het laatste. Gezien het verschil in aantasting tussen "Spitfire" en "Peach Blossom" bleek de cultivar een derde factor te vormen die van invloed is op de mate van aantasting.

Dat de hevigheid van de aantasting bij "Peach Blossom" in sterke mate afhankelijk is van de wijze waarop de sporen worden aangebracht, bleek opnieuw uit een in 1960 genomen proef. De knollen werden in dit geval besmet door toepassing van vacuüm-inoculatie (500 sporen/mm^3 in 1% methylcellulose) of door schudden met sporenpoeder (circa 7.10^4 sporen per knol). Het resultaat hiervan bij tien willekeurig gekozen dochterknollen uit beide groepen is in fig. 7 weergegeven. Duidelijk blijkt hieruit, dat sterke sorusvorming in het knolvlees vooral voorkwam na vacuüm-inoculatie van de moederknollen.

Vorming van sori in de bovengrondse delen in S1 na inoculatie in vacuüm

Enkele oriënterende proeven, genomen in de eerste jaren van het onderzoek met vatbare rassen uit de groep van de grootbloemige gladiolen, wezen uit dat ook hier meestal enkele honderden brandsporen per mm^3 inoculum aanwezig moeten zijn om een hoog percentage infectie te verkrijgen. Behalve de inoculatiemethode, de sporenconcentratie en de cultivar, bleek echter ook de aard van het plantmateriaal (kralen of knollen) een rol te spelen, zoals de volgende proef laat zien.

In 1958 werden kralen en knollen van "Dr. Fleming" en "Alfred Nobel" in vacuüm geïnoculeerd (300 sporen/mm^3 in 1% methylcellulose) en buiten uitgeplant. Na het rooien werd het percentage knollen in S1 microscopisch vastgesteld (S.M.), met het volgende resultaat (tussen haakjes het aantal onderzochte knollen):

Plantmateriaal	% knollen in S1
"Dr. Fleming" (kralen)	5 (75)
"A. Nobel" (kralen)	30 (100)
"Dr. Fleming" (knollen, 2–4 cm)	53 (125)
"A. Nobel" (knollen, 4–6 cm)	92 (25)

Bij kralen was dus minder infectie opgetreden dan bij knollen en bij "Dr. Fleming" minder dan bij "A. Nobel".

Daarnaast leverde deze proef ook nog een ander belangwekkend resultaat op. Begin september werd namelijk bij de planten uit knollen van beide rassen een aantal exemplaren gevonden met bovengronds zichtbare S1-symptomen, in de vorm van lichte sorusvorming in de binnenste bladeren of in de bloeiwijze. Bij het microscopische onderzoek van geoogste knollen, gevormd door planten zonder deze met het blote oog zichtbare verschijnselen, werd gevonden dat in verreweg de meeste gevallen het aantastingscijfer 4 was. Het mycelium bleek dikwijls zelfs aanwezig te zijn in de resten van de afgebroken bloemstengel. Op grond hiervan werd verondersteld, dat na vacuüm-inoculatie de schimmel er onder bepaalde omstandigheden in slaagt zeer snel het knol-

vlees te bereiken. Soms zelfs zo snel, dat het in het vegetatiepunt binnendringt als de laatste bladeren en/of de bloemaar nog niet of nauwelijks zijn uitgegroeid, zodat nog tijdens S1 bovengronds symptomen kunnen ontstaan. In de meeste gevallen zal de parasiet echter niet op tijd zijn om dit laatste te bewerkstelligen. Doch een hoog aantastingscijfer tegen het einde van het groeiseizoen bewijst dan, dat hij hier bijna in was geslaagd.

Bij infectie onder natuurlijke omstandigheden werden aan het eind van het groeiseizoen uitsluitend bij kralen wel eens enkele planten met bovengronds zichtbare S1-symptomen waargenomen. Bij knollen was dit echter nooit het geval.

Vergelijking van vacuüm-inoculatie met enige andere inoculatie-methoden

In 1959 werd een veldproef opgezet, waarin de vacuüm-inoculatie werd vergeleken met inoculatiemethoden die meer met de natuurlijke wijze van besmetting overeenkomen. Per behandeling werden circa 1000 knollen van "Dr. Fleming" (2,5-4 cm) en "A. Nobel" (3-4 cm) gebruikt, die gedurende de winter een warmwaterbehandeling gedurende een half uur bij 46 °C hadden ontvangen, om de mogelijkheid uit te sluiten, dat tijdens de groei S2-planten aanwezig zouden zijn (zie 4.2.1, blz. 66 e.v.). De knollen werden op de volgende wijze met brandsporen besmet:

1. Vacuüm-inoculatie: in een suspensie met 500 sporen/mm^3 in 1% methylcellulose.
2. Dompelen: de knollen werden een halve minuut in de genoemde suspensie geroerd.
3. Bespuiten: ieder partijtje knollen werd bespoten met 60 cm^3 van de genoemde suspensie (totaal aantal sporen circa 3.10^7).
4. Bepoederen: de iets bevochtigde knollen werden met 60 mg sporen bestoven en enige tijd heftig geschud (totaal aantal sporen circa 3.10^7).

Op 15 april werden alle groepen buiten uitgeplant. Na een goede opkomst en groei in de eerste maanden werd reeds begin augustus, vooral bij "Dr. Fleming" na vacuüm-inoculatie, een groot aantal planten met bladsymptomen waargenomen. Bij deze planten stagneerde de groei en bleef de bloeiwijze meestal steken. Minder ernstig aangetaste planten produceerden wel bloemen, die in een aantal gevallen sori vertoonden. Soms waren de sori uitsluitend aanwezig in de steel; ze werden dan meestal pas zichtbaar na afsnijden van de aar. Tabel 8 geeft een overzicht van de veldwaarnemingen.

De resultaten van deze proef bevestigden het vermoeden, dat het al of niet optreden van sori in de bladeren tijdens de laatste maanden van het eerste groeiseizoen na de inoculatie, bij een gewas uit knollen gegroeid, in eerste instantie wordt beïnvloed door de inoculatiemethode. Bij "Dr. Fleming" en in mindere mate bij "A. Nobel", was de bovengronds zichtbare aantasting geringer naarmate de besmetting van de knollen op een natuurlijker wijze had plaatsgevonden.

Op 26 september werden uit alle nummers 25 planten zonder bovengrondse symptomen gerooid, waarna de ondergrondse delen op macro- en microscopische symptomen werden onderzocht. Het resultaat is gegeven in tabel 9.

Onafhankelijk van inoculatiemethode en cultivar waren in stolonen en kra-

TABEL 8. Invloed van de inoculatiemethode op het optreden van bovengrondse symptomen van brand in het eerste seizoen na de inoculatie (S1).
The effect of the method of inoculation on the incidence of smut symptoms in the first season after inoculation (S1), in the leaves and flowers of the cultivars 'Dr. Fleming' and 'Alfred Nobel'.
Inoculation methods:
1. Vacuum-inoculation: in a suspension with 500 spores/mm³ in 1% methylcellulose.
2. Dipped: corms stirred for half a minute in the suspension.
3. Sprayed: 60 ml of the suspension sprayed upon the corms.
4. Dusted: corms dusted with an amount of spores equivalent to 3.

Cultivar	Inoculatiemethode	Aantal planten *Number of plants*	Sori in de bladeren (%) *Sori in the leaves* (%)	Sori in de bloemen (%) *Sori in the flowers* (%)
"Dr. Fleming"	vac. inocul.	824	26,3	5,7
	dompelen *dipped*	810	7,0	1,9
	bespuiten *sprayed*	789	1,8	0,5
	bepoederen *dusted*	806	2,0	0,2
"A. Nobel"	vac. inocul.	903	1,2	0,1
	dompelen *dipped*	891	0,7	0
	bespuiten *sprayed*	906	0	0
	bepoederen *dusted*	841	0,4	0

TABEL 9. Aantal planten met macroscopische en microscopische S1-symptomen in een monster van 25 planten zonder bovengronds zichtbare aantasting. Dezelfde objecten als in tabel 8.
Number of plants with macroscopical and microscopical S1-symptoms in a sample of 25 plants without sori in the leaves and flowers, taken from the same lots as mentioned in table 8.

Cultivar	Inoculatie-methode	Sori in stolonen en kralen *Sori in stolons and cormels*	Sori in knol-schubben *Sori in corm scales*	Sori in knolvlees *Sori in corm flesh*	Microscopisch (S.M.)	
					Met mycelium *With mycelium*	Gemiddeld aantastings-cijfer *Mean rate of infection*
"Dr. Fleming"	vac. inocul.	25	25	24	24	4,0
	dompelen *dipped*	24	20	19	25	4,0
	bespuiten *sprayed*	25	22	12	24	4,0
	bepoederen *dusted*	20	10	9	23	3,9
"A. Nobel"	vac. inocul.	25	25	4	25	2,8
	dompelen *dipped*	25	22	0	19	2,0
	bespuiten *sprayed*	24	15	0	14	1,9
	bepoederen *dusted*	24	17	0	13	1,5

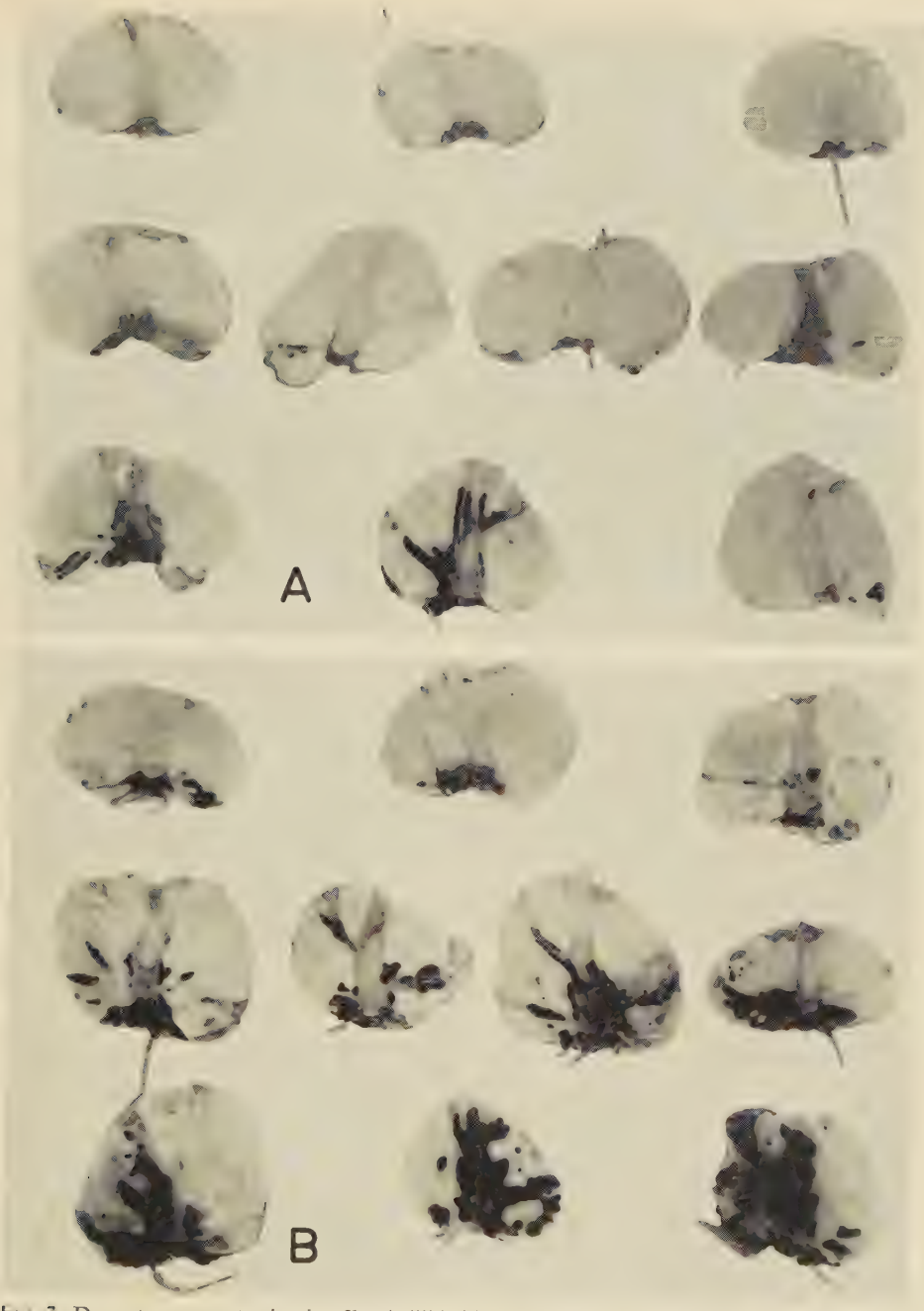


FIG. 7. De mate van aantasting in afhankelijkheid van de inoculatiemethode bij *G.* × *nanus* "Peach Blossom"; ziektebeeld op doorsnede in een tiental willekeurig gekozen knollen, waarvan de moederknollen (A): met sporenpoeder werden bestoven en (B): in vacuüm waren geïnoculeerd.
*The degree of infection in relation to the method of inoculation (*G. × nanus *'Peach Blossom') ; disease symptoms in radial sections of ten corms, chosen at random, from mother corms which were (A) dusted with smut spores or (B) inoculated in vacuum.*

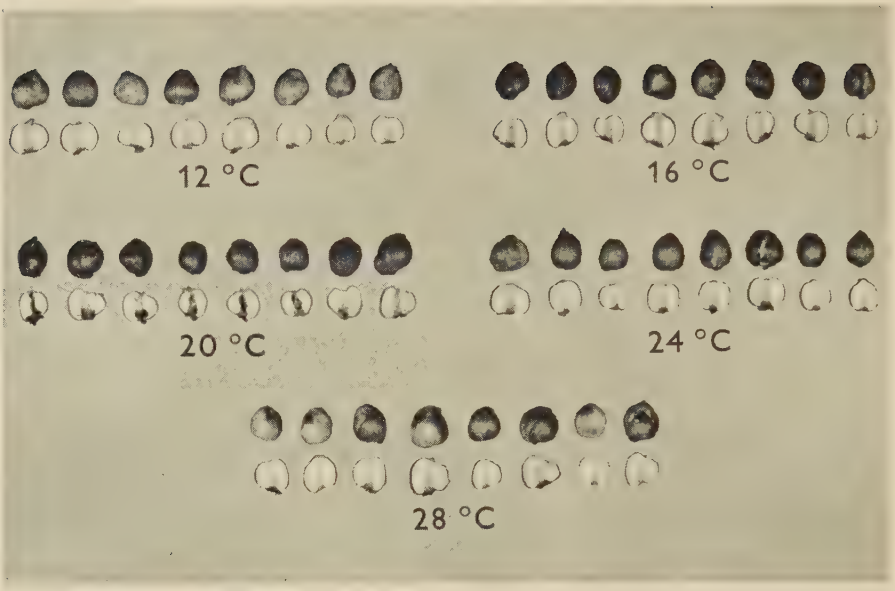


FIG. 11. De invloed van de bodemtemperatuur op het optreden van infectie en het voorkomen van sori in het knolvlees in S1. De aanwezigheid van schubsori verraadt zich in de figuur alleen door het donkerder uiterlijk van de knollen, gegroeid bij 16 en 20 °C.
The effect of soil temperature on infection and the formation of sori in the corm flesh in S1. The presence of sori in the scales of the corms grown at 16 and 20 °C is indicated by the darker appearance of the corms in this illustration.

len in bijna alle gevallen sori gevormd. In de knolschubben kwamen de sori minder algemeen voor, behalve na vacuüm-inoculatie. Bij "Dr. Fleming" waren de symptomen in het knolvlees minder talrijk, naarmate de knollen op minder drastische wijze waren besmet. Bij "A. Nobel" werden deze, in gering aantal, uitsluitend na vacuüm-inoculatie waargenomen. Ook het microscopische onderzoek liet zien, althans bij "A. Nobel", dat zowel het totale aantal geïnfecteerde knollen als het aantastingscijfer lager was, naarmate de besmetting op natuurlijker wijze had plaats gevonden.

Het tussen de beide cultivars waargenomen verschil is merkwaardig, daar de reactie juist tegengesteld was aan die in enkele hiervoor beschreven proeven. In de op blz. 26 beschreven kasproef gaf vooral "A. Nobel" bovengronds S1-symptomen te zien, terwijl de op blz. 30 gegeven resultaten van een proef met in vacuüm geïnoculeerde kralen en knollen van beide rassen uitwezen dat bij "A. Nobel" een hoger percentage S1-planten optrad dan bij "Dr. Fleming".

Een factor die van invloed was op het resultaat in 1959 is ongetwijfeld de bodemtemperatuur geweest. Het aantal uren zonneschijn van mei tot en met oktober was ongewoon groot. Tengevolge van de sterke instraling lag de gemiddelde bodemtemperatuur op 10 cm diepte — gemeten in het open, onbegroeide veld — veel hoger dan normaal; in mei bedroeg deze reeds (tussen haakjes het verschil met het veeljarig gemiddelde) 18,0 °C (+5,1°) en in de daaropvolgende maanden respectievelijk 22,2 °C (+6,5°), 22,8 °C (+5,2°), 21,4 °C (+4,0°), 18,5 °C (+3,9°). Een bodemtemperatuur van circa 20 °C is optimaal voor het optreden van brand in gladiolen in S1 (3.3.2, blz. 42 e.v.).

Het blijkt dus, dat in 1959 de omstandigheden al spoedig na het planten gunstiger waren voor de ziekte dan meestal het geval zal zijn. In de hierboven besproken proef werden jammer genoeg geen bodemtemperaturen geregistreerd, doch we mogen aannemen dat de temperatuur hier iets lager heeft gelegen dan in de zojuist vermelde gegevens tot uiting komt, daar de zoninstraling door de begroeiing werd belemmerd. Daar het gewas van "A. Nobel" zeer hoog en dicht was, dat van "Dr. Fleming" daarentegen kort en ijl, zal de bodemtemperatuur in het eerste geval minder hoog zijn opgelopen dan in het tweede. Dit zou dan het in 1959 gevonden verschil tussen de beide cultivars, althans ten dele, kunnen verklaren.

3.2.2. *Het tijdstip en de wijze van infectie*

Inoculatie op verschillende data in de loop van het groeiseizoen

In 1960 werd de volgende proef opgezet om tijdstip en wijze van infectie na te gaan. "Dr. Fleming"-knollen (6-8 cm) werden op 21 april buiten uitgeplant, na gedurende een half uur in $^1/_3$% Panosan te zijn ontsmet. Gelijktijdig werden knollen van dezelfde partij geplant na vacuüm-inoculatie in een brandsporensuspensie met 425 sporen/mm^3. Gedurende het groeiseizoen werd op 4 juni, 1 juli en 3 augustus telkens een deel van de planten van de onbesmette knollen op de volgende wijze geïnoculeerd. De ondergrondse delen werden voorzichtig blootgelegd en schoongespoten met water; vervolgens werd een wattenprop, gedrenkt in een sporensuspensie met 1% methylcellulose (circa 400 sporen/mm^3), aangebracht om de basis van de jonge knol en — op 1 juli en 3 augustus — tevens tegen de reeds gevormde stolonen. In de loop

van de zomer werden op verschillende tijdstippen enkele planten van de diverse behandelingen gerooid en microscopisch nader onderzocht op de aanwezigheid van jonge infecties. Op 7 oktober werden de resterende planten gerooid, beoordeeld op het voorkomen van macroscopische symptomen en microscopisch geanalyseerd door middel van de S.M. Een samenvatting van de waarnemingen is gegeven in tabel 10 en fig. 8.

Opvallend is de zeer zware infectie, die in alle op 4 juni en later geïnoculeerde planten in de stolonen optrad. Nadat dit op 19 juli in de "inoculatie 4/6" voor het eerst was geconstateerd (45 dagen na het aanbrengen van de spo-

TABEL 10. Waargenomen infecties in stolonen, kralen en knolschubben na inoculatie op verschillende data en de invloed van het tijdstip van infectie op het aantastingscijfer van de knollen na het rooien.
Microscopically observed infections in stolons, cormels and corm scales after inoculation at different dates and the effect of the time of entry of the fungus on the rate of infection of the corms after lifting (7th October). Inoculation on 4th June, 1st July and 3rd August by bringing spores around the base of the growing plants.

Inoculatie op *Inoculation on*	Onderzocht op *Examined on*	Infecties [1] *Infections* [1]	Opmerkingen *Remarks*
21/4 (vacuüm-inoculatie)	13/6	–	
	19/7	+	
	7/10	+ + +	24 planten, alle met sori in de ondergrondse delen. Knollen (S.M.): 22 met mycelium, gemiddeld aantastingscijfer: 2,0. *24 plants, all with sori in underground parts. Corms (S.M.): 22 with mycelium, mean rate of infection: 2.0.*
4/6	19/7	+ +	45 dagen na inoculatie/*45 days after inoculation*
	3/8	+ +	Eerste sori, 8½ week na inoculatie *First sori, 8½ weeks after inoculation*
	7/10	+ + +	26 planten, alle met sori in de ondergrondse delen. Knollen (S.M.): alle met mycelium, gemiddeld aantastingscijfer: 2,4. *26 plants, all with sori in underground parts. Corms (S.M.): all with mycelium, mean rate of infection: 2.4.*
1/7	26/7	+ +	25 dagen na inoculatie/*25 days after inoculation*
	7/10	+ + +	25 planten, alle met sori in de ondergrondse delen. Knollen (S.M.): alle met mycelium, gemiddeld aantastingscijfer: 1,8. *25 plants, all with sori in underground parts. Corms (S.M.): all with mycelium, mean rate of infection: 1.8.*
3/8	16/8	+	13 dagen na inoculatie/*13 days after inoculation*
	25/8	+ + +	
	7/10	+ + +	15 planten, alle met sori in de schubben en stolonen, 9 weken na inoculatie. Knolvlees zonder mycelium. *15 plants, all with sori in corm scales and stolons, 9 weeks after inoculation. Corm flesh without mycelium*

[1] –: Geen infectie waargenomen/*No infections observed*
+: Enkele infecties in de stolonen/*A few infections in the stolons.*
+ +: Talrijke en hevige infecties in de stolonen/*Many and heavy infections in the stolons.*
+ + +: Infecties in stolonen, kralen en knolschubben/*Infections in stolons, cormels and corm scales.*

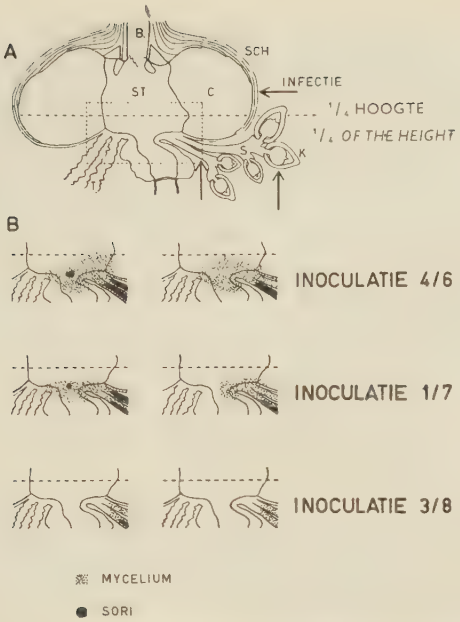


FIG. 8. A. Doorsnede door de basale delen van een gladioleplant en de plaatsen waar infectie kan optreden. ST: stele van de stengelknol; C: cortex; B: bloemsteel; SCH: knolschubben (basale delen van de schede- en loofbladen); S: stolonen; K: kralen; T: trekwortels.

B. Doorsneden door het verbindingsstuk tussen oude en jonge knol en het aangrenzende weefsel, met de verspreiding van mycelium en sori van brand op 7 oktober 1960, nadat op 4 juni, 1 juli en 3 augustus was geïnoculeerd.

A. Section through the basal parts of a gladiolus plant and the possible points of infection. ST: stele of the corm; C: cortex; B: flower stalk; SCH: corm scales (basal parts of the leaves); S: stolons; K: cormels; T: contractile roots.

B. Sections through the connecting parts between old and young corm and the surrounding tissues, and the spread of mycelium and sori of the smut fungus by 7th October 1960, after inoculation on 4th June, 1st July and 3rd August.

ren), werd bij latere inoculaties de eerste controle kortere tijd na de behandeling uitgevoerd. Zo werden op 16 augustus in de "inoculatie 3/8" de eerste infecties waargenomen. Onder gunstige omstandigheden kunnen de brandsporen dus 2 weken nadat ze met de vatbare delen van de waardplant in contact zijn gekomen, reeds infecties tot stand hebben gebracht. Ongeveer 2 maanden na de inoculatie werden in de op 4 juni en 3 augustus behandelde planten de eerste sori gevonden. Onder optimale condities is de incubatietijd dus circa 8 weken.

Op 25 augustus werd van "inoculatie 3/8" behalve de epidermis van de stolonen, ook die van de kralen en knolschubben onderzocht. Hierbij bleek, dat de infectie ook in deze delen kan plaats vinden. Bij het beëindigen van de proef op 7 oktober werden van "inoculatie 1/7" twaalf stukken knolschub verzameld, die gelegen waren onder een sorus in de buitenste schub. In geen enkel geval werden hierin sori aangetroffen. Bij microscopisch onderzoek (S.M.) bleek echter, dat in zeven stukken brandschimmel voorkwam. In vier

van deze gevallen was het mycelium duidelijk gelokaliseerd. Blijkbaar kan de parasiet dus van de ene schub op de andere overgroeien.

Uit fig. 8 blijkt hoe de parasiet op het tijdstip van rooien verder in het knolweefsel was doorgedrongen, naarmate de inoculatie vroeger in het seizoen had plaats gevonden. De inoculaties uitgevoerd op 4 juni en latere data gaven aanleiding tot 100% infectie van een zeer homogeen aantastingstype. Blijkbaar was op deze wijze, dank zij de hoge sporenconcentratie, steeds infectie opgetreden op de gunstigste plaats om het knolweefsel te bereiken, zodat de schimmel in alle knollen die op dezelfde datum waren geïnoculeerd ongeveer even ver was doorgedrongen. Na inoculatie op 3 augustus was het mycelium wel in de stolonen aanwezig, doch het was er nog niet in geslaagd om twee maanden na het aanbrengen van de sporen tot in de knollen door te dringen. Onder de omstandigheden van deze proef groeide het mycelium dus wel zeer langzaam in het weefsel van de waardplant.

De infectie na vacuüm-inoculatie was veel minder homogeen. Van de 24 volgens de S.M. onderzochte knollen waren er acht waarin het mycelium ongeveer even ver in het knolvlees was doorgedrongen als na "inoculatie 4/6". In de overige gevallen was het aantastingscijfer lager, terwijl twee knollen vrij waren van de schimmel. Het totale aantal sporen per plant was hier veel minder dan bij de later toegepaste methode en blijkbaar zijn ze niet steeds in voldoende aantallen op de voor infectie gunstigste plaatsen aanwezig geweest, om snel binnen te kunnen dringen.

Uit het bovenstaande mogen de volgende conclusies worden getrokken. Infectie van gladioleplanten door *U. gladiolicola* vindt plaats in de stolonen, kralen en knolschubben. Vervolgens groeit het mycelium van de stolonen en misschien soms ook van de knolschubben uit, via het verbindingsstuk, tot in het weefsel van oude en jonge knol.

De infectie en het verloop van de aantasting in de eerste maanden van de groei van de gladiool bij optimale bodemtemperatuur

In 3.2.1 (blz. 33) is verondersteld, dat het in 1959 in sterke mate voorkomen van S1-symptomen bij planten van in vacuüm geïnoculeerde knollen, veroorzaakt werd door de voor ons land ongewoon hoge bodemtemperaturen in dat jaar. Reeds in het begin van de groeiperiode van de gladiool lagen deze dicht bij het optimum voor het optreden van de ziekte.

Om de invloed van een optimale bodemtemperatuur in de eerste maanden na het planten te demonstreren, werd in 1961 de volgende proef uitgevoerd. "Dr. Fleming"-knollen (6-8 cm) werden op 5 januari in vacuüm geïnoculeerd (2500 sporen/mm^3) en uitgeplant in bakken, die vervolgens bij 20 C werden gebracht. Bij de eerste microscopische controle (S.M.) op 24 januari werden in de basale delen van de buitenste, vlezige schedebladen talloze infecties waargenomen. Bij later onderzoek bleek, dat de aantasting zich snel uitbreidde in beide richtingen in de lengte van deze bladen, terwijl ook in toenemende mate in het tweede en in enkele gevallen zelfs in het derde en laatste vlezige schedeblad mycelium kon worden aangetoond.

Deze schedebladeren zijn aan de basis van de jonge knol ingeplant; de daarbinnen gelegen drie à vier loofbladen staan zijdelings en op de top van de jonge knol (Hartsema, 1937).

Via de inplantingsplaats van de schedebladen drong de schimmel al spoedig door tot in het basale weefsel van de nog zeer kleine knol, om vandaar uit in korte tijd het vegetatiepunt te bereiken. Op 15 maart werden tien planten onderzocht en in zes daarvan was het mycelium al volop in de groeipunten aanwezig, terwijl het in de overige vier iets minder ver was doorgedrongen. In geen enkel geval werd het in de basale delen van de beide eerste, zijdelings ingeplante loofbladen waargenomen, terwijl het een enkele maal in het derde en nog vaker in het vierde, nog niet uitgegroeide loofblad kon worden gevonden.

De gang van zaken was hierna duidelijk. De parasiet drong na de infectie in de schedebladen snel door tot in de knol, doch kwam te laat om de beide buitenste, reeds uitgegroeide loofbladen aan te kunnen tasten, terwijl ook de groei naar binnen van blad op blad te langzaam plaats vond om deze beide delen binnen te kunnen dringen. Daar de jonge knol nog zeer klein was, werd het vegetatiepunt dikwijls bereikt voordat het derde en het vierde loofblad waren uitgegroeid.

Dat bovengrondse symptomen in S1 vrijwel uitsluitend optreden na vacuüm-inoculatie kan nu worden verklaard door aan te nemen, dat de brandsporen uitsluitend infecties tot stand kunnen brengen als ze in zeer nauw contact met de vatbare weefsels komen. Na besmetting in vacuüm kunnen namelijk talloze sporen op de buitenste, vlezige blaadjes van de knoppen worden gevonden. Deze knoppen worden beschermd door enkele goed gesloten, vliezige schubjes, die bij minder drastische besmetting verhinderen, dat de sporen in aanraking komen met de daarbinnen gelegen delen. Infectie in een jong stadium is dan zo goed als uitgesloten; deze vindt pas later in het seizoen en op grotere afstand van de knolbasis plaats, met het gevolg dat het mycelium het vegetatiepunt niet meer of in ieder geval te laat bereikt om nog S1-symptomen in de bladeren te kunnen doen ontstaan.

Dat bij planten uit kralen onder minder gunstige omstandigheden soms wel in het eerste jaar bovengronds symptomen worden gevormd, moet worden toegeschreven aan het feit, dat de groei van de knollen in dit geval minder sterk is en later in het seizoen begint. Bovendien vindt de vorming en het uitgroeien van de binnenste bladeren later plaats. De parasiet heeft dus een minder grote afstand af te leggen en kan daar langer over doen.

De wijze van infectie door *U. gladiolicola* in vergelijking met die door andere brandschimmels

We kunnen ons thans afvragen hoe deze manier van infectie zich verhoudt tot die van andere brandschimmels. Fischer & Holton (1957) onderscheiden de volgende vier groepen:

1. Kiemplant-infectie: de infectie vindt plaats in het kiemplant-stadium; het mycelium groeit later systemisch.
2. Lokale infectie: de infectie vindt plaats daar, waar later ook de symptomen te voorschijn treden; het mycelium groeit niet systemisch.
3. Embryo-infectie: de infectie vindt tijdens de bloei plaats; het mycelium overwintert in het embryo en groeit naderhand systemisch met de waardplant mee.
4. Scheut-infectie: de infectie vindt plaats in jonge knoppen en/of uitgroeiende scheuten; het mycelium groeit systemisch.

De brandziekte van gladiolen valt niet onder een van de eerste drie groepen. Bij de tot nu toe tot groep 4 gerekende gevallen is meestal weinig bekend over de wijze waarop de infectie plaats vindt. Een uitzondering hierop vormt *Ustilago scitaminea* op suikerriet, waarvoor DASTUR (1920) heeft aangetoond, dat de schimmel in jonge, tere knoppen binnendringt via dunwandige haren. De infectie kan hier zowel in slapende als in uitlopende knoppen plaats vinden. Bij *Ustilago violacea* op koekoeksbloem (HECKE, 1926) en *Tolyposporium ehrenbergii* op sorghum (PRASAD, 1945) treedt scheut-infectie op als jonge knoppen met brandsporen of sporidiën worden besmet. LEACH et al. (1946) verkregen infectie door *Ustilago striaeformis* bij *Poa pratensis*, wanneer zij de brandsporen met behulp van een injectienaald in de jonge knoppen brachten. Onder 3.2.1 (blz. 26 e.v.) is reeds aangetoond, dat deze wijze van inoculatie bij gladiolen niet tot infectie leidt.

Bij *Sphacelotheca occidentalis* op *Andropogon* (DUNLEAVY, 1956) en *Ustilago spegazzinii* op *Agropyron* (FISCHER, 1945) komt geen infectie voor na inoculatie van de bloemen, zaden en, althans bij de eerstgenoemde schimmelziekte, van kiemplanten. Dit is echter wel het geval als de ondergrondse delen worden besmet. DUNLEAVY veronderstelde dat de infectie plaats vindt in de rhizomen, daar inoculatie van knoppen en heel jonge scheuten geen succes opleverde. De zeer lange incubatietijd van twee à drie jaar in het bovenvermelde geval van *U. spegazzinii* doet vermoeden, dat de knoppen of jonge scheuten ook hier niet direct worden geïnfecteerd.

Gladiolen vormen, voor zover bekend, het eerste gewas waarbij met zekerheid is vastgesteld, dat bij scheut-infectie de brandschimmel niet steeds direct in de knoppen of jonge scheuten binnendringt, doch het vegetatiepunt ook via een omweg kan bereiken. Bij deze plantesoort worden gewoonlijk de stolonen geïnfecteerd en van daaruit groeit de parasiet naar het vegetatiepunt, dat meestal na een of soms zelfs pas na twee jaar wordt bereikt. Een uitzondering op deze regel kwam hiervoor (blz. 36) ter sprake; daar werd aangetoond, dat wanneer knollen na vacuüm-inoculatie worden geplant onder omstandigheden, optimaal voor het optreden van infectie, de schimmel snel in de basale delen van de schedebladen (dat zijn dus de jonge knolschubben) binnendringt en reeds drie à vier maanden later in de bovengrondse delen tot sporenvorming kan overgaan.

3.2.3. *Variatie in het effect van de infectie in S1*

Zoals beschreven, werden bij diverse gelegenheden gladioleplanten in S1 macro- en microscopisch onderzocht op het voorkomen van sori en mycelium van de brandschimmel. Hierbij waren planten van kralen en knollen van "Dr. Fleming" en "A. Nobel" betrokken, terwijl infectie had plaats gevonden in besmette grond zowel als in kunstmatig besmet plantmateriaal (zie onder 3.1.2, 3.2.1 en 3.2.2). De verschillen in mate van aantasting die in S1 werden waargenomen, zijn schematisch in fig. 9 weergegeven. Steeds werden de eerste macroscopisch zichtbare verschijnselen gevonden in de stolonen en, gelijktijdig of iets later, ook in de kralen en de knolschubben. Het mycelium was echter steeds meer of minder ver vooruit op de eventueel gevormde sori en was dikwijls via het verbindingsstuk tussen oude en jonge knol al in het weefsel van beide doorgedrongen, waar soms in een later stadium ook sori konden worden gevormd.

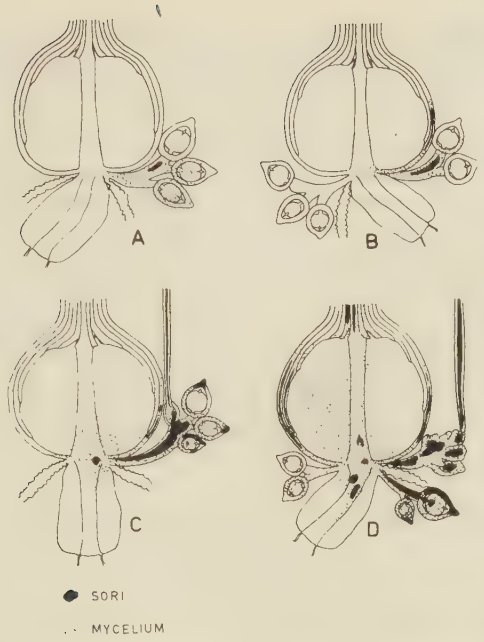


FIG. 9. Verschillende stadia van aantasting door brand in S1, aan het einde van de groeiperiode.
Different stages of infection by smut in S1 at the end of the growing season.

Bij infectie onder natuurlijke omstandigheden was bij planten uit knollen de situatie tegen de rooitijd meestal als aangegeven in fig. 9A, B of C. Bij kralen was de parasiet dikwijls verder doorgedrongen en soms slaagde hij er zelfs in om tijdens S1 in de bovengrondse, bladachtige delen sori te vormen (fig. 9D). Na vacuüm-inoculatie en onder gunstige omstandigheden voor het optreden van de ziekte werd ook bij planten uit knollen deze zware aantasting waargenomen; dikwijls kwamen dan sori in de binnenste bladeren en/of de bloeiwijze voor.

Na het rooien wordt in het basale deel van de jonge knol een periderm gevormd. Bij het schoonmaken breken de verdroogde moederknol en de resten van trekwortels en stolonen hierlangs af. Terwijl bij de meeste andere gladioleziekten de vorming van deze kurklaag geheel of gedeeltelijk wordt verhinderd, waardoor het "pellen" moeilijkheden oplevert, heeft de aanwezigheid van brandmycelium geen invloed op het ontstaan van deze laag. Het fellogeen vormt cellen in longitudinale richting, zodat de vaatbundels worden gebroken en afgesloten door de kurklaag. Hetzelfde gebeurt met het brandmycelium, waarvan later soms restjes in het periderm kunnen worden teruggevonden.

Als het mycelium uitsluitend in de basale delen van de knollen voorkomt (fig. 9 B), is het afhankelijk van de plaats waar de kurklaag ontstaat, of het al of niet in het jonge knolweefsel wordt opgenomen. "Dr. Fleming"-knollen gegroeid in besmette grond (blz. 17) bleken na de oogst, vrijwel onafhankelijk van het voorkomen van sori in de schubben, al of niet mycelium te bevatten. Blijkbaar was hier de parasiet bij het rooien in de meeste planten ongeveer

in het stadium van fig. 9A of B, zodat de schimmel in het ene geval net wel en in het andere net niet in de knol terecht kwam. Bij de knollen van kralen van "Van Tienhoven" (SCHENK, 1958) en in andere gevallen waar de schimmel bij het rooien reeds verder was doorgedrongen, werd gevonden dat in bijna alle knollen met schubsori ook mycelium in het knolvlees voorkwam.

Op grond van de geschetste gang van zaken tijdens en na de infectie mag worden verwacht, dat wanneer een knol mycelium van de brandschimmel bevat, meestal een of meer van de aan dezelfde plant gevormde kralen ook mycelium zullen dragen. Wanneer omgekeerd enkele kralen van een plant zijn geïnfecteerd, zal de knol niet noodzakelijkerwijs aangetast behoeven te zijn.

In de herfst van 1958 werden van vier partijen gladiolen (drie na vacuüminoculatie en een in besmette grond) waarin infectie was opgetreden, telkens 50 knollen met de bijbehorende kralen apart gerooid. Tot 25 februari 1959 werden deze bewaard bij 17 °C om de S2-symptomen na het uitplanten snel en volledig te voorschijn te roepen. Daarna was de bewaartemperatuur 9 C om te voorkomen dat de rust, vooral van de kralen, bij het planten onvoldoende gebroken zou zijn, hetgeen tot verminderde en vertraagde opkomst had kunnen leiden. Voor het planten werden de harde schubjes van de kralen verwijderd, ook al om verzekerd te zijn van een zo volledig mogelijke kieming. Op 20 april werden de knollen met bijbehorende kralen afzonderlijk in potten geplant en in een kas gebracht. Na opkomst werden de planten met S2-symptomen regelmatig verwijderd. Tabel 11 geeft een samenvatting van de waarne-

TABEL 11. Het voorkomen van S2-symptomen in 1959 in de nakomelingschap (knol + kralen) van 200 planten, waarin in 1958 infectie door brand was waargenomen; 29 planten uitgevallen door *Fusarium*-aantasting.
The incidence in 1959 of S2-symptoms in the progeny (corm with cormels) of 200 plants which had shown smut infection in 1958; 29 plants killed by Fusarium.

Knollen met S2-spruit *Corms with S2-sprout*	Een of meer bijbehorende kralen met S2-spruit *One or more of the accessory cormels with S2-sprout*	Aantal planten *Number of plants*	Aantal kralen *Number of cormels*	% S2-planten uit kralen *% S2-plants from cormels*	% S2-planten uit knollen *% S2-plants from corms*
+[1]	+	85	2471	59,0	
+	−	3 (100)	73	0	
−	+	12	254	8,7 (36,5)	51,5
−	−	71	1258	0	

[1] + betekent met S2-spruit, − zonder S2-spruit.
\+ *with S2-sprout*, − *without S2-sprout.*

mingen, waarbij een indeling is gemaakt in vier groepen (respectievelijk + +, + −, − + en − −) al naar gelang de moederknol en een of meer van de door deze gevormde kralen wel of geen S2-symptomen te zien gaven. Bij het beëindigen van de proef op 29 juli, werden de oude knollen van de − + gevallen microscopisch op de aanwezigheid van mycelium onderzocht. Drie planten vielen toen alsnog in groep + +.

Het totale aantal gevallen waarin op enigerlei wijze S2-symptomen naar voren kwamen bedroeg 100 (som van de groepen + +, + − en − +), waarvan 85% viel in de groep + +, 12% in de groep − + en 3% in de groep + −. Daar gladiolekralen zelden voor 100% uitlopen is het zeer wel moge-

lijk, dat het aantal + — gevallen met 3% te hoog is gewaardeerd. De op grond van het microscopische onderzoek geuite veronderstelling, dat het in sterke mate optreden van + — planten zeer onwaarschijnlijk is, wordt door deze proef bevestigd.

De verhouding tussen het aantal gevallen in de groepen + + en — + zal afhankelijk zijn van de omstandigheden in S1. Wanneer de brandzwam bij het rooien in het stadium van fig. 9A of B verkeert, zullen veel — + gevallen voorkomen. Is de schimmel echter reeds verder in het knolweefsel doorgedrongen, dan zal het + + type gaan overheersen. Dit laatste is in deze proef het geval geweest. In alle partijen werd namelijk na het rooien in de herfst van 1958 door microscopisch onderzoek (S.M.) vastgesteld, dat het aantastingstype van de zieke knollen in verreweg de meeste gevallen twee tot vier bedroeg. Achteraf bezien was het gebruiken van in vacuüm geïnoculeerd materiaal dus minder gunstig om de mogelijkheid van het talrijk optreden van het — + type te demonstreren.

3.3. DE INVLOED VAN HET MILIEU OP DE ONDERSCHEIDEN STADIA

3.3.1. *De invloed van enkele cultuurmaatregelen in S1*

Invloed van plantdatum, plantdiepte en bemesting op de infectie

In 1958 werden enkele oriënterende proeven opgezet om na te gaan of bemesting, plantdiepte en plantdatum van invloed zijn op de infectie in S1. Enerzijds werden in vacuüm geïnoculeerde kralen van "Dr. Fleming" in onbesmette grond uitgezaaid, terwijl anderzijds gezonde, onbesmette knollen van dezelfde cultivar (3-4 cm) werden geplant in besmette grond waar het jaar tevoren brandzieke gladiolen hadden gestaan. De proeven werden opgezet in een blokkenschema met drie herhalingen. De volgende objecten waren in de proeven opgenomen: *plantdiepte* (3, 9 en 15 cm), *bemesting* (geen, matig – 6 kg/are mengmeststof 6-18-28 bij het planten, 3 kg/are kalkammonsalpeter in juli – en ruim – respectievelijk 12 kg/are en 6 kg/are) en *plantdatum* (9 en 29 april en 20 mei).

Na de oogst werden de knollen gedurende de winter bij 17 °C bewaard (om S2U en het verloren gaan van latente infecties te vermijden) en daarna opnieuw uitgeplant. Het percentage S2-planten in de zomer van 1959 gaf dus een weerspiegeling van de invloed van de behandeling op de infectie in 1958. Uit de verkregen resultaten bleek, dat de bestudeerde cultuuromstandigheden geen duidelijke invloed hebben op het tot stand komen van infectie door brand.

Invloed van het rooitijdstip op het aantastingstype

Om na te gaan of het rooitijdstip van invloed kan zijn op het percentage infectie en het aantastingscijfer in S1, werd in 1959 van de op blz. 31 e.v. besproken inoculatieproef op 15 en 26 september en 19 oktober een aantal planten van "A. Nobel" gerooid, waarvan de knollen voor het planten met sporenpoeder waren bestoven. Het hierna volgende staatje geeft het resultaat van het microscopische onderzoek (S.M.):

rooidatum	totaal aantal planten	% S1-planten	gemiddeld aantastingscijfer
15/9	62	57	1,7
26/9	25	52	1,5
19/10	71	56	2,1

In dit geval was er dus geen sprake van een hoger percentage zieke knollen, noch van een verhoging van het aantastingscijfer bij later rooien. In het algemeen zullen de bodemtemperaturen in de herfst te laag zijn (zie ook 3.3.2) om een duidelijke invloed in deze richting uit te oefenen. Kralen worden gerooid van augustus tot oktober en soms zelfs november. Het is dan niet uitgesloten dat een groot verschil in rooidatum een merkbare invloed heeft, in het bijzonder wanneer de bodemtemperaturen in die tijd nog hoog zijn, zoals bijvoorbeeld in 1959 het geval was.

3.3.2. *De invloed van de temperatuur en het vochtgehalte van de grond in S1*

Methodiek

Voor het onderzoek naar de invloed van de bodemtemperatuur stonden grote, in een kas geplaatste tanks ter beschikking. Elke tank was gevuld met circa 600 l water, dat met behulp van een verwarmingselement en een koelaggregaat met spiraal, door middel van contact-thermometers nauwkeurig op iedere gewenste temperatuur tussen 0 en 35 °C kon worden ingesteld. De planten werden opgekweekt in gegalvaniseerde ijzeren bakken (13 × 30 cm en 30 cm diep), inwendig met plasticverf bestreken en gevuld met grond. Deze bakken werden in de tanks gehangen, met het water tot enkele centimeters onder de rand. De grond werd met een circa 2 cm dikke laag Tempex-vlokken (een witte, isolerende, niet waterabsorberende kunststof) bedekt om beïnvloeding van de bodemtemperatuur door zoninstraling zoveel mogelijk tegen te gaan.

Gedurende een deel van de groeiperiode in de zomer van 1959 werd de bodemtemperatuur met behulp van thermokoppels op verschillende plaatsen continu geregistreerd. Hierbij bleek, dat de temperatuurschommelingen in droge grond iets groter waren dan in vochtige. Zo bedroeg de afwijking in matig vochtige grond bij een watertemperatuur van 12 °C middenin de bak op 5 cm diepte bij zonnig weer overdag +1,5 tot +1,7 °C en 's nachts +0,5 °C. In droge grond was dit respectievelijk +2,4 tot +2,5 °C en +0,5 tot +0,7 °C. In de 28 °C tank, op dezelfde plaats in de bak gemeten, werd overdag geen verschil met de watertemperatuur geregistreerd; 's nachts trad echter een afwijking op van —0,8 tot —1,0 °C in matig vochtige grond en van —1,0 tot —1,4 °C in droge grond.

De regeling van het vochtgehalte van de grond vormde bij deze langdurige proeven een groot probleem. Wanneer men namelijk het waterverlies in de bakken aanvult door van bovenaf water te geven, dan stelt het vochtgehalte in de bovenlaag van de grond zich in op dat bij veldcapaciteit, terwijl de grond onderin de bak droog blijft. Het was daarom niet mogelijk om gedurende de gehele tijdsduur van de proef verschillende vochtgehalten van de grond homogeen te handhaven. De enige mogelijkheid om weer een bij benadering homo-

gene bevochtiging te verkrijgen was dan ook zoveel water toe te voegen, dat de grond in de hele bak op veldcapaciteit werd gebracht.

Als medium werd een mengsel gebruikt van zandgrond met bladaarde (3 : 1), waarvan het volumegewicht na het planten circa 1,09 bedroeg. Het vochtgehalte bij veldcapaciteit was 33%. Bij het begin van de proef werd alle grond tot dit punt bevochtigd, daarna werd variatie aangebracht volgens het onderstaande schema:

Droge grond: water aangevuld tot veldcapaciteit als het gemiddelde vochtgehalte van de grond tot beneden 8% was gedaald.

Matig vochtige grond: aangevuld zodra het gemiddelde vochtgehalte minder dan 18% bedroeg.

Vochtige grond: aanvankelijk een maal, later twee maal per week aangevuld. Achteraf werd berekend, dat het vochtgehalte in dit geval bij 12 °C tussen 28 en 33% en bij 28 °C tussen 22 en 33% had gevarieerd.

De bakken met planten werden wekelijks gewogen; die met vochtige grond al spoedig zelfs twee maal per week. Steeds werd het oorspronkelijke gewicht van de bak hersteld, zonder dat rekening werd gehouden met het toenemende gewicht van de planten. Bij het beëindigen van de proef bleken de planten van een bak 350-400 gram te wegen, overeenkomend met 3,5 à 4% vochtgehalte van de grond. Op dat tijdstip werd inderdaad gevonden, dat het werkelijke vochtgehalte enkele procenten lager lag, dan werd berekend op grond van het totale gewicht van de bakken. Aan de hand van grondmonsters, die toen op verschillende diepten werden getrokken, werd vastgesteld dat een goed homogene bevochtiging was verkregen; uit enkele bepalingen van het volumegewicht bleek, dat vooral in de bakken met vochtige grond bij hogere temperatuur een zekere inklinking had plaats gevonden (zo was bij "28 °C-vochtig", dank zij de 23 l water die gedurende de proefduur per bak was toegevoegd, het volumegewicht van 1,09 tot 1,13 opgelopen).

De proef werd uitgevoerd met "Dr. Fleming"-knollen (2,5-3 cm), welke gedurende de winter een warmwaterbehandeling gedurende een uur bij 46 °C hadden ontvangen om het optreden van S2 te vermijden (zie 4.2.1, blz. 66). Voor het planten op 30 juni 1959 werden deze gedurende 5 uur in 2% Aaglitan ontsmet, vervolgens 19 uur gespoeld in stromend water en tenslotte in vacuüm geïnoculeerd in een suspensie met 300 brandsporen per mm^3 in 1% methylcellulose. De controles werden in 1% methylcellulose onder vacuüm gebracht. Per bak werden 30 knollen op vijf cm diepte geplant. Tijdens de groei werd drie maal 1,5 l Knops voedingsoplossing per bak en eenmaal een oplossing van de mengmeststof 12-10-18 (in een dosering equivalent met 5 kg per are) toegediend. Om van een goede opkomst verzekerd te zijn, werden de bakken tot 29 juli in een kas gezet, waar de temperatuur tijdens zonneschijn soms tot hoge waarden opliep. Daarna werden ze geplaatst in de tanks bij watertemperaturen van respectievelijk 12, 16, 20, 24 en 28 °C. In iedere tank werden zes bakken met geïnoculeerde knollen (voor ieder vochtgehalte twee) en twee met controles gebracht, welke laatste werden behandeld volgens de werkwijze voor matig vochtige grond.

Invloed op de groei van de waardplant

De ontwikkeling van de planten in droge grond was bij alle bodemtemperaturen opvallend minder dan bij een hoger vochtgehalte, terwijl bij 20 °C en

hoger de groei van de planten in matig vochtige grond iets minder was dan die in vochtige. De overeenkomstige vochtgehalten bij 20 °C en hoger gaven geen aanleiding tot opvallende standsverschillen. Bij 12 °C bleven de planten duidelijk achter, bij 16 °C was dit nauwelijks het geval. Tussen planten uit geïnoculeerde knollen en die van de controles werden geen verschillen in groei waargenomen.

Het gemiddelde gewicht van de knollen na het rooien op 19 oktober (zie tabel 12) vertoonde een tamelijk goede correlatie met de waargenomen ver-

TABEL 12. De groei van planten van in vacuüm geïnoculeerde knollen van "Dr. Fleming" bij verschillende bodemtemperaturen en wisselend vochtgehalte van de grond; gemiddelden van twee herhalingen.
The yield of plants grown from vacuum-inoculated corms of 'Dr. Fleming', growing at different soil temperatures and changing soil humidity limits; means of two plantings of 30 corms each.
Temperature controlled in large constant temperature tanks.
Humidity controlled by bringing the moisture content back to field-capacity (33%) at different stages of drying out of the soil.

Bodemtemperatuur *Soil temp.*	Grenzen vochtgehalte van de grond (%) *Soil humidity limits* (%)	Behandeling van de knollen *Treatment of the corms*	Aantal gerooide knollen *Number of corms lifted*	Gemiddeld gewicht per knol (g) *Mean weight per corm* (g)	Gemiddeld aantal kralen per plant *Mean number of cormels per plant*
12 °C	9–33 (droog/*dry*)	vac.-inoc.	24	2,2	3,1
	18–33 (matig/*medium*)	,,	22	3,2	4,8
	28–33 (vochtig/*moist*)	,,	23	3,2	5,4
	15–33 (matig/*medium*)	onbehandeld *untreated*	27	3,1	6,5
16 °C	9–33 (droog/*dry*)	vac.-inoc.	26	2,1	4,1
	14–33 (matig/*medium*)	,,	24	3,2	6,9
	26–33 (vochtig/*moist*)	,,	26	3,3	7,8
	14–33 (matig/*medium*)	onbehandeld *untreated*	28	2,8	9,0
20 °C	8–33 (droog/*dry*)	vac.-inoc.	22	2,3	5,5
	16–33 (matig/*medium*)	,,	26	3,1	6,5
	24–33 (vochtig/*moist*)	,,	26	4,0	9,2
	16–33 (matig/*medium*)	onbehandeld *untreated*	28	3,0	12,0
24 °C	7–33 (droog/*dry*)	vac.-inoc.	22	2,1	1,8
	17–33 (matig/*medium*)	,,	28	3,8	5,8
	23–33 (vochtig/*moist*)	,,	24	4,3	5,3
	17–33 (matig/*medium*)	onbehandeld *untreated*	25	4,0	6,7
28 °C	7–33 (droog/*dry*)	vac.-inoc.	24	2,2	0,4
	16–33 (matig/*medium*)	,,	23	3,7	1,9
	22–33 (vochtig/*moist*)	,,	22	4,2	2,6
	14–33 (matig/*medium*)	onbehandeld *untreated*	27	3,5	2,2

schillen in ontwikkeling van de planten, met deze uitzondering, dat de mindere stand bij 12 °C niet in het knolgewicht tot uitdrukking kwam. Blijkbaar was in droge grond bij alle bodemtemperaturen water de beperkende factor. Bij 12 en 16 °C was de temperatuur, bij voldoende vocht, te laag voor op-

timale groei, terwijl bij 20 °C en hoger ook in matig vochtige grond het water weer als beperkende factor optrad. De knolgroei werd niet beïnvloed door de brandinfectie, zelfs niet bij 20 °C, waar, zoals hierna wordt besproken, toch sprake was van een zeer zware aantasting.

Het gemiddelde aantal kralen per plant was in sterke mate afhankelijk van de bodemtemperatuur, zoals vooral blijkt bij de onderlinge vergelijking van de controlegroepen. Een duidelijk optimum lag bij 20 °C, terwijl bij 28 °C nauwelijks kralen waren gevormd. Dezelfde tendens komt tot uiting bij de geïnoculeerde partijen. De kralenvorming werd, in tegenstelling tot de groei van de knollen, wel door de brandinfectie beïnvloed, zoals blijkt bij vergelijking van het aantal kralen in de controles met dat in de overeenkomstige met brand besmette partijen. Naarmate een heviger reactie op de infectie door brand optrad, werden verhoudingsgewijs minder kralen gevormd.

Invloed op de infectie en het verloop van de aantasting

Bovengrondse S1-symptomen werden slechts bij een plant uit "16 °C" en drie planten uit "20 °C" waargenomen. Om de infectie en de daaropvolgende aantasting onder de verschillende omstandigheden te kunnen beoordelen, werden na het rooien op 19 oktober de volgende bepalingen gedaan:

a. Het aantal knollen met schubsori.
b. De mate van sorusvorming in de schubben, gewaardeerd naar een index van 1 (zeer kleine, met het blote oog nauwelijks zichtbare sori) tot 4 (de helft of meer van het oppervlak der schubben met sori bedekt).
c. Het aantal knollen met sori in het vlees.
d. Het aantal kralen met uitwendig zichtbare sori.
e. Het totaal aantal geïnfecteerde knollen, bepaald met behulp van de S.M.
f. Het gemiddelde aantastingscijfer van de geïnfecteerde knollen.

De waarnemingen aan de planten uit de zes bakken bij iedere temperatuur zijn in fig. 10 grafisch uitgezet. In de controles werd geen brand gevonden. Duidelijk blijkt, dat bij 20 °C een uitgesproken optimum lag, zowel voor macro- als microscopische symptomen. Schubsori, die bij 20 °C en in iets geringere mate ook bij 16 °C zeer talrijk en goed ontwikkeld waren, kwamen bij 12 °C weinig voor en waren bovendien zo onopvallend, dat ze onder normale cultuuromstandigheden niet ontdekt zouden zijn. Knollen gegroeid bij 24 en 28 °C waren geheel vrij van schubsori. Voor kralen met schubsori werd dezelfde tendens gevonden. Merkwaardigerwijs werden sori in het knolvlees vrijwel uitsluitend bij 20 °C gevormd (fig. 11). Het totale percentage geïnfecteerde knollen, microscopisch (S.M.) bepaald, lag iets hoger dan dat voor de knollen met schubsori. Bij 24 °C werden enkele knollen gevonden met weinig, slecht ontwikkeld mycelium. Bij vergelijking van de aantastingscijfers bij de verschillende temperaturen valt op, dat bij 16 en 20 °C de schimmel in beide gevallen ongeveer tot in de top van de knollen was doorgedrongen. Dat uitsluitend bij 20 °C sorusvorming in het knolvlees had plaats gevonden, doet vermoeden, dat dit verschijnsel aan nauwere temperatuurgrenzen is gebonden dan de groei van het mycelium.

Het feit dat in deze proef zelfs bij een bodemtemperatuur van 20 °C nage-

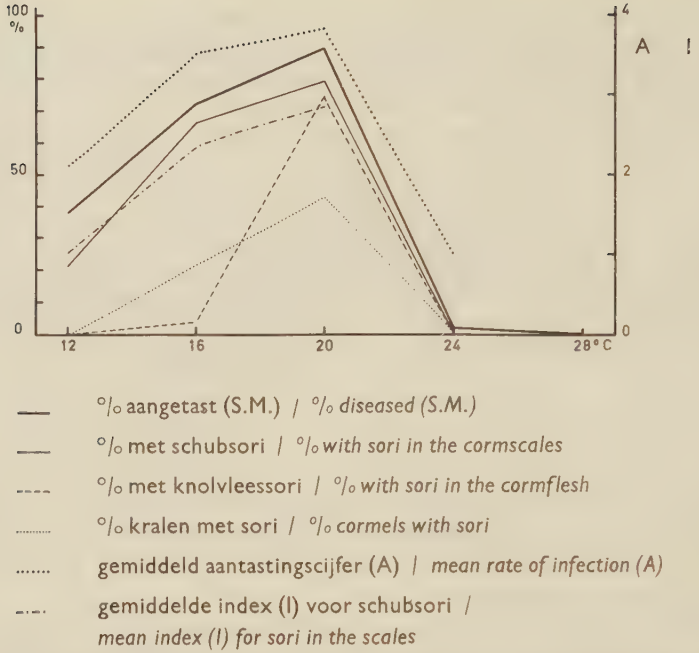


FIG. 10. De invloed van de bodemtemperatuur op de infectie door brand en het optreden van macro- en microscopische symptomen in S1 (gemiddelden van zes maal 30 geplante knollen per temperatuur).
The effect of soil temperature on the infection by smut and the appearance of macro- and microscopical symptoms in S1 (means of six times 30 corms planted at each temperature). The size of the sori in the scales was measured by an arbitrary index (I) from 1 (pinpoint sori) to 4 (more than half of the surface with sori).

noeg geen bovengrondse S1-symptomen werden gevormd, moet worden toegeschreven aan de omstandigheden in de kas waar de bakken de eerste maand na het planten hebben gestaan. Daar de temperatuur hier overdag opliep tot ver boven het optimum, kon in de beginperiode van de groei van de planten geen infectie tot stand komen.

De invloed van het vochtgehalte van de grond bij die bodemtemperaturen, waar infectie was opgetreden, valt uit fig. 12 af te lezen. Bij 12 en 16 C was de mate van infectie en het optreden van schubsori het sterkst wanneer het vochtgehalte van de grond varieerde tussen 8 en 33%, dus onder droge condities. Tussen vochtige en matig vochtige grond werden hier geen belangrijke verschillen geconstateerd. Bij de voor brand optimale temperatuur van 20 C speelde de vochthuishouding in de grond nauwelijks een rol.

Samenvattend leidt deze proef dus tot de conclusie, dat in S1 de bodemtemperatuur in belangrijke mate zowel het tot stand komen van de infectie, als de ontwikkeling van de ziekte bepaalt. Boven de optimale temperatuur van 20 C neemt de kans op infectie zeer snel af en reeds bij 24 C treedt deze niet of nauwelijks meer op. Het vochtgehalte van de grond heeft op deze verschijnselen slechts een geringe invloed. Blijkbaar bestaat er weinig verband

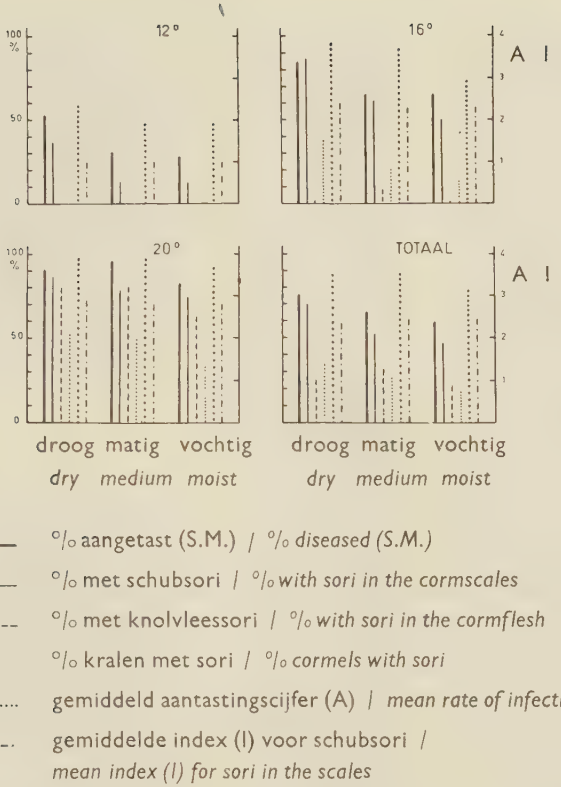

12°
16°
20°
TOTAAL
A I
droog matig vochtig
dry medium moist
droog matig vochtig
dry medium moist
°/o aangetast (S.M.) / °/o diseased (S.M.)
°/o met schubsori / °/o with sori in the cormscales
°/o met knolvleessori / °/o with sori in the cormflesh
°/o kralen met sori / °/o cormels with sori
gemiddeld aantastingscijfer (A) / mean rate of infection (A)
gemiddelde index (I) voor schubsori /
mean index (I) for sori in the scales

FIG. 12. De invloed van het vochtgehalte van de grond op de infectie door brand en het optreden van macro- en microscopische symptomen in S1 bij verschillende bodemtemperaturen; gemiddelden van twee maal 30 geplante knollen.
The effect of soil humidity on the infection by smut and the appearance of macro- and microscopical symptoms in S1 at three different soil temperature levels; means of twice 30 corms planted. See also fig. 10 and table 12.

tussen de omstandigheden die van invloed zijn op het optreden van brand en die welke de groei van de gladioleplant bepalen.

3.3.3. *De invloed van de bewaartemperatuur in S1B*

Hiervoor (zie 3.1.3 blz. 18) werd reeds behandeld hoe de bewaartemperatuur tijdens de wintermaanden van invloed is op de groei van brandmycelium in gladioleknollen van grootbloemige cultivars en daardoor ook op de aantasting in S2. Nadat dit was gevonden werden verschillende pogingen gedaan om de optimale temperatuur voor de groei van de parasiet in S1B nauwkeurig te bepalen. In fig. 13 zijn de resultaten weergegeven van enkele proeven, die een meer of minder duidelijke lijn te zien gaven. Het volgende materiaal werd hiertoe gebruikt:

I. "Dr. Fleming" 1957-1958: de knollen waren afkomstig van besmette grond. De waarnemingen in S1 en S2 zijn besproken in 3.1.2 (blz. 17 e.v.) en 3.1.3 (blz. 18 e.v.).

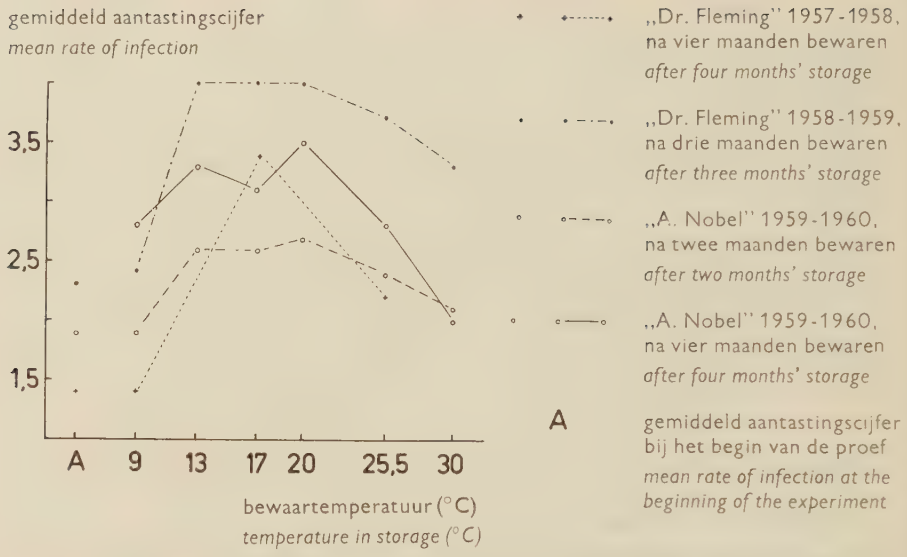


FIG. 13. De invloed van de bewaartemperatuur in S1B op de groei van brandmycelium in gladioleknollen, weergegeven door de toeneming van het gemiddelde aantastingscijfer.
The effect of storage temperature in S1B on the growth of smut mycelium in gladiolus corms, as shown by the increase of the mean rate of infection.

II. "Dr. Fleming" 1958-1959: ook deze knollen waren in besmette grond geïnfecteerd.

III. "A. Nobel" 1959-1960: dit materiaal was afkomstig van de inoculatieproef, die in 3.2.1 (blz. 31 e.v.) werd behandeld. De moederknollen waren in de sporensuspensie gedompeld of met droge sporen bepoederd. In deze serie werd het aantastingscijfer bepaald na twee en vier maanden bewaring bij de aangegeven temperaturen.

De gemiddelde waarden in de grafische voorstelling werden in de beide eerste gevallen berekend op grond van slechts vijf tot acht aangetaste knollen; bij "A. Nobel" bedroeg dit aantal ongeveer 30.

Een nauwkeurige bepaling van de optimale temperatuur voor de uiterst langzame myceliumgroei in S1B was op grond van de resultaten niet mogelijk. In het traject van 13 tot 20 °C was de groei het snelst, terwijl de schimmel waarschijnlijk ook bij 9 en 25,5 °C in de loop van vele maanden iets verder was doorgedrongen.

Door verschillende oorzaken was het in enkele andere series moeilijk om het effect van bewaring bij diverse temperaturen vast te stellen. Men moet immers, om betrouwbare verschillen te kunnen waarnemen, beschikken over partijen knollen met een hoog percentage infectie met homogeen laag aantastingscijfer. Dergelijk materiaal was niet gemakkelijk te vinden. Verder bleek uit analoge proeven met knollen van vroegbloeiende rassen, dat de parasiet er bij zijdelingse infecties niet of zelden in slaagde om verder door te dringen, terwijl dit bij de aantastingen vanuit de basis bij temperaturen tussen 17 en

FIG. 14. De invloed van de bodemtemperatuur op het ziektebeeld in S2.
A, B en C: bovengrondse symptomen tijdens de groei bij "A. Nobel" (partij II, blz. 49).
D, E en F: symptomen in doorsneden van de planten direct na het rooien (eveneens in partij II).
G, H en I: als D, E, en F, doch bij planten van "Dr. Fleming" (partij I, blz. 49).
The effect of soil temperature in S2.
A, B and C: symptoms in plants of 'A. Nobel' (lot II, see table 13).
D, E and F: symptoms in underground parts of the plants directly after harvesting (same lot as mentioned above).
G, H and I: as D, E and F, but in plants of 'Dr. Fleming' (lot I, table 13).

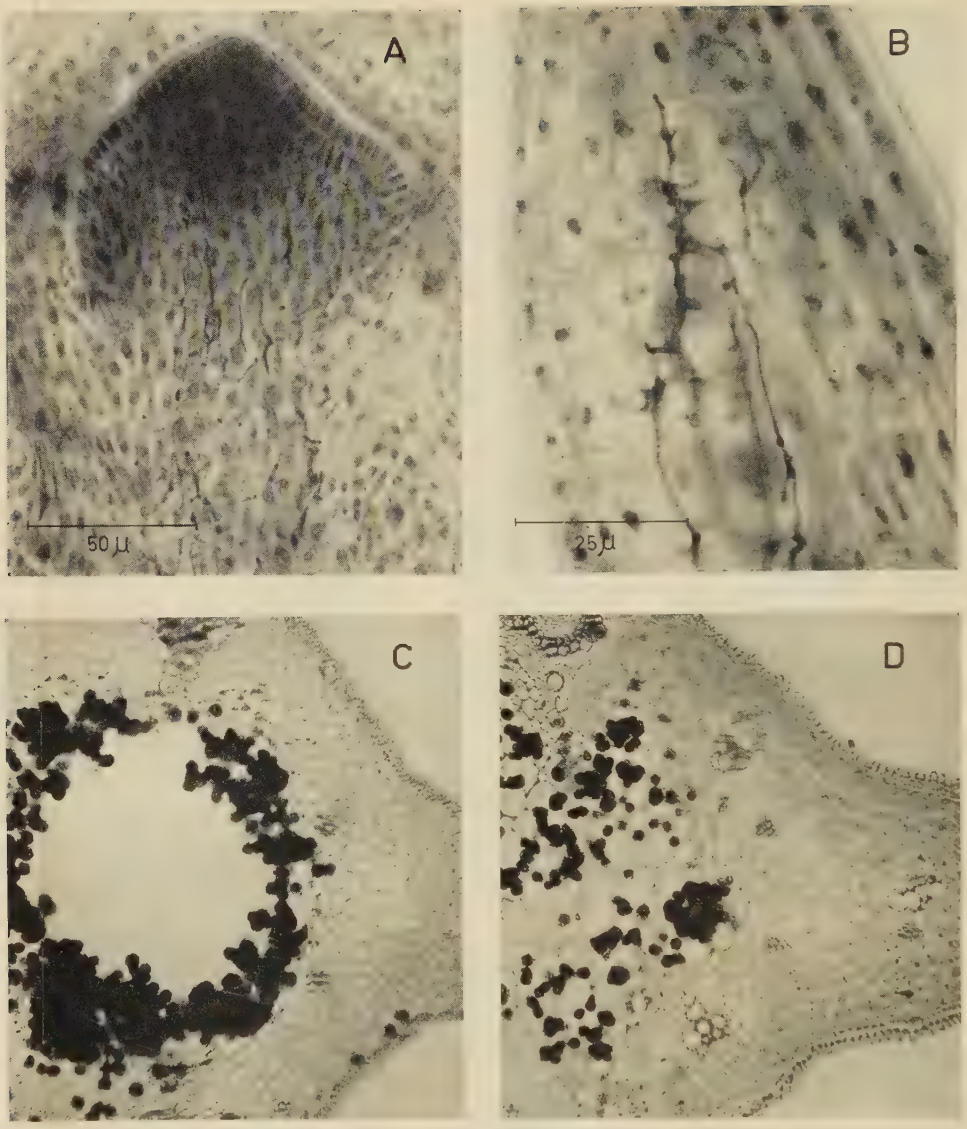


FIG. 17. A en B: Het mycelium van de brandschimmel in het vegetatiepunt (A) en in een blaadje van een jonge knop (B).
C: grote sorus in het bladweefsel van de sterke symptomen vertonende cultivar "Dr. Fleming"; ruimte oorspronkelijk geheel gevuld met brandsporen.
D: sporenvorming in de intercellulaire holten van een blad van de cultivar "Firmament" met minder opvallende uitwendig zichtbare symptomen.
A and B: mycelium of the smut fungus in the vegetative point (A) and in the young leaf of the bud (B).
C: large sorus in leaf tissue of the cultivar 'Dr. Fleming', which shows heavy disease symptoms; originally the cavity was completely filled with smut spores.
D: formation of spores in the intercellular cavities in a leaf of the cultivar 'Firmament', which shows less distinct disease symptoms.

20 °C wel het geval was. Bij grootbloemige gladiolen werd waargenomen, dat in zeer licht aangetaste knollen van het type 1, waarbij uitsluitend hyfen in het schorsweefsel tegen de basis van de stele voorkwamen, geen verdere groei van de schimmel plaatsvond. Blijkbaar kan het mycelium in S1B alleen dan verder woekeren, wanneer het bij het rooien van de knollen reeds vaste voet in de centrale cylinder heeft gekregen. Tenslotte kan de groei worden verhinderd, doordat soms necrotische plekken in het vaatbundelweefsel ontstaan of doordat andere parasitaire schimmels het knolweefsel aantasten.

Gladioletelers meenden te hebben waargenomen, dat knollen door voortschrijdende sorusvorming tijdens de bewaring geheel te gronde kunnen gaan. Om na te gaan of in S1B brandsori in het knolvlees kunnen ontstaan, dan wel zich verder kunnen uitbreiden, werden in twee opeenvolgende winters knollen met enerzijds uitsluitend mycelium en anderzijds mycelium en sori bij een reeks verschillende temperaturen bewaard. Een gedeelte van de partijtjes werd in gesloten papieren zakken gedaan om de eventuele invloed van te sterke uitdroging uit te schakelen. Zelfs na bewaring gedurende een half jaar werd echter geen vorming of uitbreiding van sori geconstateerd. Of dit ook zo is bij de vroegbloeiende cultivars is niet met zekerheid bekend. Bij "Peach Blossom" en "Spitfire" werden eenmaal, na maandenlange bewaring bij 17 en 20 °C, enkele knollen aangetroffen met grotere sori dan bij andere temperaturen het geval was. Het uitgangsmateriaal was echter te heterogeen om hieraan conclusies te kunnen verbinden.

3.3.4. *De invloed van de bodemtemperatuur in S2*

Met behulp van de in 3.3.2 (blz. 42) beschreven installatie werd in 1960 de invloed van de bodemtemperatuur in S2 bestudeerd. Het volgende plantmateriaal stond hiertoe ter beschikking:

I. "Dr. Fleming" (4-6 cm); afkomstig van planten met S1-symptomen van de inoculatieproef beschreven onder 4.3.2 (blz. 81). Het aantastingscijfer was onbekend, doch waarschijnlijk hoog.

II. "A. Nobel" (8-12 cm); knollen met schubsori, afkomstig van de inoculatieproef beschreven onder 3.2.1 (blz. 31, vacuüm-inoculatie). Het gemiddelde aantastingscijfer bedroeg na het rooien in 1959 circa 2,8.

III. "A. Nobel" (10-12 cm); als II, doch besmet door dompelen. Het gemiddelde aantastingscijfer in de herfst van 1959 was circa 1,9.

Alle partijen werden tot de plantdatum (21 juli) bij 9 °C bewaard, daar werd verondersteld, dat bij deze temperatuur geen groei van het mycelium plaats zou vinden. Achteraf is het echter waarschijnlijk, dat de schimmel tijdens de tien maanden durende bewaring niet geheel in rust heeft verkeerd (zie ook 3.3.3). Voor het planten werden de knollen kaal gepeld en gedurende een uur ontsmet in $^1/_3$% Panosan ter voorkoming van nieuwe infecties. Per temperatuur werden van I twee bakken à 20 knollen van van II en III ieder vier bakken à acht knollen ingezet bij een plantdiepte van tien centimeter. Direct na het planten werd een hoeveelheid mengmeststof 12-10-18 toegediend, equivalent aan 10 kg per are. In deze proef werd regelmatig naar behoefte water toegediend. Van de aanvang af werden de volgende bodemtemperaturen gehandhaafd: 12, 16, 20, 24, 28 en 32 °C.

De zeer snelle opkomst van de planten bij 20, 24 en 28 °C werd al spoedig gevolgd door die bij 16 en 32 °C, terwijl de planten bij 12 °C zeer traag opkwamen. Hierbij deden zich al direct grote verschillen voor. Bij 24 °C en hoger groeiden de planten kaarsrecht op, zonder enige afwijking te vertonen. Bij 20, 16 en naderhand ook bij 12 °C gaven de meeste planten, zodra ze boven de grond kwamen, het typische beeld te zien van een zware aantasting uit knollen met hoog aantastingscijfer: geknikte, scheef gegroeide exemplaren, met de ten gevolge van sorusvorming aanvankelijk witachtig doorschemerende, later donker verkleurende strepen. Na enkele weken vertoonden de zwaar aangetaste planten in grond van 20 °C reeds de eerste afstervingsverschijnselen, op de voet gevolgd door die in grond van 16 °C. Bij een bodemtemperatuur van 12 °C was het ziekteproces sterk vertraagd (fig. 14A, B en C).

Tot het beëindigen van de proef in de eerste week van november werden aan planten in de bakken bij 24 °C en hoger geen brandsymptomen waargenomen. Op dat tijdstip werden alle planten gerooid en op de gebruikelijke wijze macroscopisch en, voor zover nodig, microscopisch onderzocht. De groei van de gladiolen kon uitsluitend worden beoordeeld bij de drie hoogste temperaturen, aangezien nagenoeg alle planten in de overige series waren afgestorven. Opvallend was, dat bij 24 °C goed ontwikkelde knollen met gesloten schubben en veel kralen waren gevormd. Bij 28 en 32 °C daarentegen waren in overeenstemming met de resultaten in 1959 (3.3.2, blz. 42 e.v.) vrijwel geen kralen aanwezig, terwijl bovendien de knolschubben dikwijls waren gescheurd, alsof de bases van de bladscheden de groei van de knol niet hadden kunnen bijhouden.

Bij de drie hoogste temperaturen werden ook ondergronds geen symptomen gevonden, met uitzondering van een tweetal planten bij 24 °C, waar op de bladscheden juist aan het grondoppervlak enkele speldepunt-grote sori voorkwamen. In dit verband is het nog interessant te vermelden, dat in aangetaste spruiten bij 12 en 16 °C sorusvorming in het knolvlees was opgetreden, hoewel dit vooral bij 12 °C in veel mindere mate het geval was dan bij 20 °C (fig. 14). In S1 (3.3.2, blz. 45 e.v.) werd dit verschijnsel uitsluitend bij de laatstgenoemde temperatuur waargenomen.

Alle goed ontwikkelde knollen van spruiten zonder S2-symptomen werden inclusief de moederknol microscopisch (S.M.) onderzocht. In tabel 13, waar de resultaten zijn samengevat, is onderscheid gemaakt tussen die gevallen, waarbij het mycelium uitsluitend in de oude knol werd teruggevonden en die, waar het bovendien tot in de jonge knol was doorgedrongen. Het meest verrassende was wel, dat de schimmel bij 24 °C in vrijwel alle gevallen bovenin de jonge knollen aanwezig bleek te zijn. De stolonen van deze planten, die afzonderlijk werden onderzocht, bleken ook volop mycelium te bevatten. Het merkwaardige verschijnsel viel dus waar te nemen, dat de brandziekte van gladiolen zich bij een bodemtemperatuur van 24 °C latent kon handhaven, zonder de groei van de waardplant merkbaar te beïnvloeden. Mycelium dat zich bij het planten in het vegetatiepunt bevond, kon bij deze temperatuur de zeer snelle groei van de bladachtige delen blijkbaar niet volgen, doch slaagde er wel in gelijke tred te houden met de zich langzaam ontwikkelende knol en de door deze gevormde stolonen.

Bij 28 en 32 °C was echter ook deze mogelijkheid uitgesloten. De parasiet kon hier niet in de jonge weefsels binnendringen. Bij microscopisch onderzoek

TABEL 13. De invloed van de bodemtemperatuur in S2.
The effect of soil temperature in S2. Date of planting: 21st July, date of lifting: 1st November.
Plant material:
I: 'Dr. Fleming' (4–6 cm); rate of infection unknown, but probably high; twice 20 corms at each temperature.
II and III: 'A. Nobel' (8–12 and 10–12 cm respect.); mean rate of infection before nine months' storage at 9 °C: 2.8 and 1.9; 4 times 8 corms of both lots at each temperature.

Partij *Lot*	Bodemtemperatuur *Soil temperature*	Totaal aantal spruiten *Total number of sprouts*	Aantal S2-spruiten *Number of S2-sprouts*	Microscopisch onderzoek (S.M.) na het rooien *Microscopical examination (S.M.) after lifting*				
				Onderzocht aantal jonge knollen *Number of young corms examined*	Mycel. uitsluitend in oude knol *Mycel. in old corm only*		Mycel. ook in jonge knol *Mycel. also in young corm*	
					Aantal *Number*	Gem. aantastingscijfer oude knollen *Mean rate of infection of the old corms*	Aantal *Number*	Gem. aantastingscijfer jonge knollen *Mean rate of infection of the young corms*
I	12 °C	45	42	2	0	–	1	1
	16 °C	41	40	1	1	4	0	–
	20 °C	55	54	1	1	4	0	–
	24 °C	47	0	28	0	–	27	3,6
	28 °C	32	0	25	24	4,0	0	–
	32 °C	17[1]	0	11	10	4,0	0	–
II	12 °C	75	71	4	4	3,8	0	–
	16 °C	62	61	1	0	–	1	4
	20 °C	73	71	2	0	–	1	2
	24 °C	70	0[2]	50	0	–	50	3,8
	28 °C	48	0	43	42	4,0	0	–
	32 °C	39	0	36	35	4,0	0	–
III	12 °C	42	33	8	5	3,4	3	2,7
	16 °C	45	36	9	6	3,0	2	1,5
	20 °C	57	49	8[3]	2	4,0	6	2,7
	24 °C	45	0	32	3	4,0	29	3,3
	28 °C	36	0	31	31	3,7	0	–
	32 °C	26	0	24	24	3,5	0	–

[1] Slechts 20 knollen geplant/*Only 20 corms planted.*
[2] Twee planten met enkele speldepunt-grote sori vlak boven de grond.
Two plants with a few pin-point sori just above soil.
[3] Waaronder drie planten met sori in ondergrondse delen.
Three plants with sori in underground parts.

maakte het mycelium een gedegenereerde indruk, op dezelfde wijze als ook na een warmwaterbehandeling het geval is (zie 4.2.1, blz. 68).

Daar blijkbaar het gemiddelde aantastingscijfer van de zieke knollen in partij III bij het planten hoger is geweest dan was verondersteld, gaf deze proef geen duidelijke lijn te zien wat betreft het optreden van S2U bij lagere temperaturen. Bij 20 °C werden drie planten gevonden met macroscopische S2U-symptomen. De microscopische waarnemingen wezen uit, dat het mycelium bij deze temperatuur vaker was doorgegroeid tot in de jonge knol, waardoor minder latente infecties verloren gingen dan bij 12 en 16 °C het geval was.

3.4. DE INVLOED VAN DE VERSCHILLENDE STADIA VAN DE ZIEKTE OP DE GROEI VAN DE GLADIOOL

Invloed van S1 op de groei van de gladiool

In verreweg de meeste gevallen, waarbij infectie in S1 optrad, werd geen opvallende beïnvloeding van de groei van de waardplant waargenomen. De belangrijkste uitzondering op deze regel vormde de hiervoor besproken inoculatieproef met "Dr. Fleming" en "A. Nobel" (3.2.1, blz. 31 e.v.).

Dank zij de in 1959 bijzonder gunstige omstandigheden voor het optreden van infectie werden toen in de laatste maanden van het groeiseizoen, vooral bij "Dr. Fleming" na vacuüm-inoculatie, zeer veel planten gevonden waarvan de bovengrondse delen sterk waren aangetast. In deze gevallen groeiden de jonge knollen niet verder. Ook werd uit de bodemtemperatuurproef met in vacuüm geïnoculeerde knollen (3.3.2, blz. 43 e.v.) de aanwijzing verkregen, dat de vorming van kralen in S1 kan worden gehinderd.

In 1960 werd een proef opgezet om deze vragen nader te bestuderen. Knollen van "Dr. Fleming" (6-8 cm) en "Firmament" (3,5-4 cm) werden op de gebruikelijke wijze in vacuüm geïnoculeerd (in 1% methylcellulose met 400 sporen/mm^3) of met sporenpoeder bestoven (respectievelijk circa 21.10^6 en 13.10^6 sporen per partijtje van 100 knollen), terwijl als controles onbehandelde en met 1% methylcellulose behandelde knollen werden opgenomen. Op 14 april werden van iedere behandeling 4 maal 100 knollen in een blokkenschema uitgeplant.

Tijdens de groei werden bovengronds geen zichtbare S1-symptomen waargenomen[1]. Na de oogst werden van ieder nummer 25 knollen macro- en microscopisch op de aanwezigheid van brand onderzocht; bovendien werd het gewicht van de geoogste kralen en knollen bepaald. Uit het overzicht van de resultaten, gegeven in tabel 14, blijkt, dat ook in dit geval weer de hevigste infectie plaats vond na vacuüm-inoculatie. De cijfers over de groei van de gladiool zijn veel sterker beïnvloed door de in de noot genoemde afwijkingen, dan door de brandinfectie en zijn daarom weinig betrouwbaar. Zij geven echter wel duidelijke aanwijzingen voor de juistheid van het vermoeden, dat de groei van de waardplant in S1 onder Nederlandse omstandigheden zelden ernstig wordt belemmerd.

Mate van aantasting van gladioleknollen in S1 in afhankelijkheid van de grootte

Het bovengestelde probleem werd ook nog op andere wijze benaderd, door knollen van natuurlijk besmette kralen van "Van Tienhoven" van verschillende grootteklassen na de oogst microscopisch (S.M.) te onderzoeken. Tabel 15 geeft een overzicht van het resultaat, waaruit blijkt dat er geen sprake was van een hoger percentage aantasting bij de kleine knollen, zoals verwacht kon worden, indien de groei door brandinfectie was gehinderd.

Interessant is het verloop van het gemiddelde aantastingscijfer, waaruit

[1] Te velde werden in deze proef, vooral bij "Dr. Fleming", pleksgewijs bepaalde afwijkingen waargenomen, die, onafhankelijk van de gegeven behandelingen, ook in naburige gladioleproeven op deze tuin voorkwamen. In ernstige gevallen trad een karteling aan de bladranden op, terwijl bij veel planten de groei werd vertraagd of soms helemaal stilstond. Kralen werden door de zwaar aangetaste exemplaren nauwelijks gevormd.

TABEL 14. Invloed van de infectie op de groei van gladiolen in S1, wanneer geen bovengronds zichtbare symptomen optreden. Gemiddelden van vier herhalingen (mc. = 1% methylcellulose). De aantasting door brand werd na het rooien bepaald aan 4 maal 25 knollen per behandeling.
Effect of the infection on the growth of gladioli ('Dr. Fleming' 6–8 cm and 'Firmament' 3.5–4 cm) in S1 when no sori in the leaves are formed. Means of four replicates, 4 times 100 corms per treatment. After lifting, smut infection was determined on 4 times 25 corms per treatment.
Methods of inoculation:
Dusted: corms dusted with spores.
Vacuum-inoculated: in suspension of 400 spores/mm³ in 1% methylcellulose.
Controls: untreated and vacuum-treated in 1 % methylcellulose (= vac. in mc.).

Behandeling *Treatment*	Macroscop. sympt.		Microscop. sympt.		Gemiddeld gewicht (g) *Mean weight (g)*		
	% sori in knolschubb. *% sori in corm scales*	% sori in knolvl. *% sori in corm flesh*	% knollen in S1 *% corms in S1*	Gemiddeld aantastings-cijfer *Mean rate of infection*	per knol *per corm*	van de kralen per knol *of the cormels per corm*	
						kralen 1–2 cm *cormels 1–2 cm*	kralen > 2 cm *cormels > 2 cm*
"Dr. Fleming"							
Bepoederen *Dusted*	1	0	7	1,8	26,0	0,65	1,77
Vac.-inocul.	8	0	42	2,0	24,4	0,77	1,82
Onbehandeld *Untreated*	0	0	0	–	26,4	0,85	1,64
Vac. in mc.	0	0	0	–	23,5	0,61	1,38
"Firmament"							
Bepoederen *Dusted*	0	0	15	1,8	12,0	1,09	0,88
Vac.-inocul.	24	40	89	3,5	10,4[1]	0,90	0,89
Onbehandeld *Untreated*	0	0	0	–	11,4	1,01	0,77
Vac. in mc.	0	0	0	–	11,9	1,03	0,81

[1] Bij weglating van een zeer slecht gegroeid nummer gemiddeld 11,2.
Mean 11.2 with one badly grown lot omitted.

TABEL 15. Verdeling van de microscopisch waargenomen mate van aantasting in S1 over knollen van verschillende grootte van een partij.
Microscopically examined infections in S1, in relation to the size of the corms.

Grootte van de knollen *Size of the corms*	Aantal onderzocht *Number examined*	Met mycelium *With mycelium*	Gemiddeld aantastings-cijfer *Mean rate of infection*
2–3 cm	100	11	3,5
3–4 cm	100	15	3,1
4–5 cm	100	18	2,4
5–6 cm	100	12	2,0
6–7 cm	95	16	2,0

blijkt dat de kleine knollen grotendeels geheel door de parasiet waren doorwoekerd, terwijl hij in de grote knollen nog niet veel verder was gekomen dan de basale delen. Dit past in het beeld, dat van de wijze van infectie is gegeven. Als de schimmel het vlees van knollen van verschillende grootte op eenzelfde tijdstip binnendringt, zal hij, bij gelijke groeisnelheid, in kleine knollen eerder

tot in de top doorgedrongen zijn. In enkele andere proeven werden de conclusies bevestigd, dat het percentage infectie onafhankelijk is van de knolgrootte, terwijl het aantastingscijfer afneemt naarmate de knollen sterker zijn gegroeid.

Invloed van S2 op de groei van de gladiool

Zoals eerder is uiteengezet, wordt de groei van de gladioleplant in S2 ernstiger belemmerd, naarmate het aantastingscijfer bij het planten hoger is en de symptomen dientengevolge sneller optreden. Daartegenover doen zich gevallen voor waarbij latente infecties geheel verloren gaan of zich als S2U (al of niet macroscopisch zichtbaar) openbaren. Bovendien is gebleken, dat bij een bodemtemperatuur van 24 °C de schimmel in knollen van het aantastingstype 4 er niet in slaagt door te dringen in de bovengrondse delen, doch wel latent van oude op jonge knollen overgaat (3.3.4, blz. 49 e.v.).

Alhoewel hierover geen cijfers ter beschikking staan, is uit de proeven nooit de indruk verkregen, dat de groei van de gladiool ernstig wordt geschaad wanneer de parasiet uitsluitend in de ondergrondse delen aanwezig is.

Samenvattend kan dus de conclusie zijn, dat de brandschimmel van gladiolen noch in S1, noch in S2 en S2U, de groei van de waardplant duidelijk beinvloedt, zolang hij niet tot in de bovengrondse bladachtige delen weet door te dringen. Slaagt hij daarin wel, dan zijn de gevolgen ernstiger, naarmate dit in een vroeger stadium van de groei van de gladioleplant plaats vindt.

3.5. DE VATBAARHEID VAN GLADIOLESOORTEN EN -CULTIVARS

In de praktijk kan men de brandziekte van gladiolen vooral vinden in de vroegbloeiende cultivars uit de groepen *G.×nanus* en *G.×colvillei*. Uit tuinbouwkundig oogpunt is het belang van deze groepen gering vergeleken met dat van de grootbloemige gladiolen, waar brand slechts in enkele cultivars regelmatig wordt gevonden en dan in de meeste gevallen in een zeer laag percentage (minder dan 1%).

Teneinde gegevens te verzamelen over de vatbaarheid van het grootbloemige sortiment, werden in 1958 van 57 van de belangrijkste in cultuur zijnde rassen ongeveer 150 knollen (2-4 of 4-6 cm) in vacuüm geïnoculeerd in een suspensie met 300 sporen/mm³ in 1% methylcellulose. Om verspreiding van andere ziekten van het ene partijtje naar het andere tijdens de inoculatie zoveel mogelijk te voorkomen, werden de knollen van te voren gedurende een half uur ontsmet in een oplossing van Panosan (½%) en daarna 2½ uur gespoeld in stromend water. Op 24 april werden de aldus behandelde knollen geplant in een onverwarmde kas. Om te controleren of de omstandigheden overal even gunstig waren voor het optreden van infectie, werden van de vatbare cultivar "Dr. Fleming" vier op deze wijze besmette partijtjes op verschillende plaatsen in de kas in het plantschema opgenomen.

Na het rooien op 10 oktober werden de knollen onderzocht op de aanwezigheid van sori in de knolschubben, terwijl van ieder ras 25 knollen zonder macroscopische symptomen microscopisch (S.M.) werden gecontroleerd. De resterende knollen zonder schubsori werden in 1959 weer uitgeplant, waarna tijdens de groei het aantal S2-planten werd bepaald. Van de 57 cultivars werd slechts bij 29 aantasting door brand waargenomen.

In tabel 16 zijn alle genoemde waarnemingen verenigd in het totale percentage infectie, dat in 1958 was opgetreden. Dit werd vastgesteld aan ongeveer 125 knollen per cultivar. Bovendien zijn in deze tabel de cultivars van de vroegbloeiende en grootbloemige groepen vermeld, waarin de Bloembollenkeuringsdienst bij de keuring te velde brandaantasting heeft waargenomen. Verder is een aantal *Gladiolus* species opgenomen, die volgens schriftelijke mededeling van Dr. WHEELER van het U.S. Department of Agriculture vatbaar voor brand zouden zijn. Enkele in dit schrijven genoemde cultivars komen ook voor in de opgave van de Bloembollenkeuringsdienst, met uitzondering van "Joost van den Vondel" uit de groep Herautgladiolen, waarin – voor zover bekend – in Nederland nooit brand werd geconstateerd.

De aantasting van enkele zeer vatbare cultivars was in de inoculatieproef betrekkelijk laag. Dit kan misschien worden verklaard door aan te nemen, dat het kwikbevattende ontsmettingsmiddel door $2^1/_2$ uur spoelen in water onvoldoende verwijderd was. Daar bovendien het percentage infectie bij de verschillende partijtjes van "Dr. Fleming" varieerde van 2,5 tot 18,7 moet worden geconcludeerd, dat in 1958 de omstandigheden in de kas niet homogeen zijn geweest. De in de tabel vermelde percentages geven dus geen betrouwbare inlichtingen over de tussen de cultivars bestaande verschillen in vatbaarheid, terwijl ook het niet optreden van infectie geen zekerheid biedt, dat het desbetreffende ras onvatbaar is. De cultivars waarin geen brand werd geconstateerd zijn daarom ook niet opgenomen, met uitzondering van die welke door de Bloembollenkeuringsdienst op grond van veldwaarnemingen als wel vatbaar werden opgegeven.

Het volgende staatje geeft een overzicht van de herkomst van de inlichtingen omtrent de vatbaarheid van de 55 in de tabel genoemde grootbloemige gladiolen (+ betekent vatbaar).

aantal cultivars	opgave Bloembollenkeuringsdienst	inoculatieproef
13	+	+
19	+	niet opgenomen
16	niet vermeld	+
7	+	geen infectie
55	39 cultivars vatbaar	29 cultivars vatbaar

In zeven gevallen is de ziekte te velde geconstateerd, hoewel in de inoculatieproeven geen infectie werd waargenomen. De oorzaak kan enerzijds worden gezocht in de blijkbaar minder gunstige omstandigheden in de kas waar de besmette knollen werden uitgeplant, waardoor weinig vatbare rassen een kans kregen te ontsnappen. Anderzijds werd in deze zeven cultivars dikwijls maar een- of tweemaal brand aangetoond, meestal slechts in enkele planten, zodat het niet geheel zeker is, dat ze alle inderdaad vatbaar zijn.

In de kleurbeschrijvingslijsten die jaarlijks vanwege de Nederlandse Gladiolus Vereniging worden uitgegeven, worden ongeveer 700 in cultuur zijnde grootbloemige cultivars genoemd. Op grond van het feit dat van de 57 cultivars, die in de inoculatieproef waren opgenomen, er 29 geïnfecteerd werden,

TABEL 16. De vatbaarheid voor brand van *Gladiolus* species en van cultivars uit de vroegbloeiende en grootbloemige groepen.
Gladiolus *species and cultivars in the early flowering and the large-flowered groups susceptible to smutinfection.*
×: vatbaar volgens schriftelijke mededeling van Dr. WHEELER (U.S. Department of Agriculture).
susceptible according to Dr. WHEELER, *U.S. Department of Agriculture.*
+: vatbaar volgens opgave van de Bloembollenkeuringsdienst.
susceptible as shown by field inspection of the Bulb Inspection Service.
( ): percentage infectie na vacuüm-inoculatie.
percentage infection after vacuum-inoculation.

GLADIOLUS SPECIES

G. byzantinus Miller	×
G. communis L.	·
G. cuspidatus Jacq.	×
G. grandis Thunb.	×
G. imbricatus L.	×
G. palustris Gaudin	×
G. segetum Ker-Gawl.	×
G. triphyllus Sibthorp	×
G. tristis L.	×

VROEGBLOEIENDE CULTIVARS/EARLY FLOWERING CULTIVARS

Albus en Albus The Bride	+	×
Charm en Charm Rose	–	·
Cinderella	+	
Edith Cadel	+	
Floriade	+	
Joost van den Vondel		×
Nymph	+	×
Peach Blossom	+	×
Queen Wilhelmina	+	×
Robinetta	+	
Rosa Munda	+	
Rose Mary	+	
Spitfire	+	×
Succes	+	

GROOTBLOEMIGE CULTIVARS/LARGE-FLOWERED CULTIVARS

Acca Laurentia	+	(1,0)
Alfred Nobel	+	(15,5)
Allard Pierson	+	(13,3)
Arc de Triomphe	+	
Atlantic		(3,8)
Benares	+	(0)
Benjamin Britten	+	
Bloemfontein	+	(6,7)
Doctor Fleming	+	(13,4)
Don Camillo	+	
Elan	+	(5,2)
Firmament	+	(10,9)
Flowerdream		(7,5)
Friendship		(3,4)
Goal		(8,8)
Gregor Mendel		(4,0)
Gustav Mahler	+	(0)
Han van Meegeren	+	(10,1)
Hopman's Glory	+	(0)
Johann Strauss	+	(0)
Jo Wagenaar		(0,8)
Juniklokken		(1,6)
Lady Boreel	+	
Lavender Dream		(2,7)
Lavender Giant	+	
Lilac Time	+	
Lovely Melody	+	
Lustige Witwe		(6,7)
Mabel Violet	+	(0,8)
Mansoer		(0,9)
Mary Housley	+	
Memorial Day		(0,8)
Modern Times	+	(3,2)
New York	+	
Orange Queen	+	
Pactolus		(1,0)
Pandion	+	
Pastel Beauty	+	
Patriot	+	
Paul Rubens		(1,6)
Prinses Beatrix	+	(0)
Queen Elizabeth	+	
Red Fox	+	
Red Signal	+	(0)
Rosa van Lima	+	(15,0)
Salman's Sensation		(12,5)
Scarlet Leader		(1,1)
Skymaster	+	
Sneeuwprinses	+	(0)
Sunny Boy	+	(2,5)
Vanguard		(2,4)
Van Tienhoven	+	
Victory Day	+	
Vink's Glory	+	
Zigeunerliebe	+	(16,4)

mag worden aangenomen dat circa 50% van de rassen in de genoemde groep meer of minder vatbaar is voor brand. Daar de ziekte tot nu toe te velde slechts in 39 cultivars werd gevonden - en dan vrijwel altijd nog slechts in zeer lichte mate - bewijst wel dat de parasiet niet in staat is om zich snel uit te breiden. Van een werkelijke bedreiging van de gladiolecultuur door deze parasiet is dan ook geen sprake.

3.6. DE BRANDSCHIMMEL

3.6.1. *De infectie en het mycelium in de waardplant*

Sporekieming

In de loop van het onderzoek werden verschillende mislukte pogingen gedaan om brandsporen in vitro tot kieming te brengen, in de hoop op deze wijze meer kennis te verzamelen over de wijze waarop dit essentiële deel van de levenscyclus van de parasiet verloopt en over de omstandigheden die daarop van invloed zijn. Bovendien zou dan waarschijnlijk de mogelijkheid bestaan de saprofytische stadia van de schimmel in voedingsmedia te kweken.

AINSWORTH (1949) vermeldt vergeefse pogingen, de sporen van *Urocystis gladiolicola* te doen kiemen. Daar ook andere brandschimmels in dit opzicht soms moeilijkheden geven, hebben veel onderzoekers gezocht naar methoden om dit proces in vitro sneller en volledíger te laten verlopen (zie voor een overzicht FISCHER & HOLTON, 1957).

In eigen proeven werden sporen van de gladiolebrandschimmel gebracht in vaste en vloeibare media, variërend van gedestilleerd water en grondextract tot voedingsbodems met een hoog gehalte aan koolhydraten en eiwitten, bij verschillende temperaturen en blootgesteld aan daglicht of duisternis. In de proeven werden pas gevormde sporen gebruikt en sporen die een of meer jaren oud waren.

Om de eventuele invloed van een 38-tal anorganische en organische stoffen (waaronder boterzuur en benzaldehyde, die bij *Urocystis tritici* en *U. occulta* sterk stimulerend werken) na te gaan, werden smalle strookjes filtreerpapier gedompeld in de desbetreffende vloeistoffen of in oplossingen van deze verbindingen. In steriele petrischalen met water of grondextractagar werden brandsporen gestoven, waarna een doordrenkt papiertje midden in de schaal werd gelegd. In een andere proefserie werden de sporen in een waterige suspensie of op wateragar in de loop van een aantal dagen een of meer malen bevroren en weer ontdooid; in dezelfde periode werden andere suspensies eentot driemaal gedurende een uur tot 40 °C verwarmd. Verder werden droge en bevochtigde sporen aan verschillende doses ultraviolet licht blootgesteld. De aldus met fysische middelen behandelde sporen werden op wateragar en grondextractagar gebracht.

In de herfst van 1960 werden stolonen verzameld van groeiende planten van een vatbaar cultivar. Deze werden op drie manieren gesteriliseerd, namelijk in een autoclaaf (20 min. bij 130 °C), door gassterilisatie (1 ml propyleenoxyde per liter inhoud, gedurende 26 uur) en door ontsmetting in een oplossing van een fenolverbinding, gevolgd door spoelen in steriel water. Op deze wijzen behandelde weefselstukjes werden in een sporensuspensie gedompeld

en uitgelegd op wateragar of in een vochtige kamer in een hangende druppel water.

In geen der hier aangeduide proeven werd ook maar enige aanwijzing verkregen, dat kieming van de sporen optrad. Blijkbaar stellen deze een of meer bijzondere eisen aan het milieu, waaraan in geen enkel geval werd voldaan.

In 3.2.2 (blz. 33 e.v.) werd beschreven hoe onder gunstige omstandigheden reeds enkele weken nadat een wattenprop gedrenkt in een brandsporensuspensie met de stolonen van groeiende gladioleplanten in contact werd gebracht, de parasiet volop in de vatbare delen kon worden aangetoond. Bij de controles op de verschillende data (zie tabel 10) werden de restanten van de reeds ten dele verteerde wattenproppen onderzocht op de aanwezigheid van kiemende sporen. Zelfs onder deze voor infectie gunstige omstandigheden, had slechts een gering aantal sporen kiembuizen gevormd (minder dan 1%). In die gevallen waren lange, tere hyfen uitgelopen. De indruk werd verkregen dat deze soms met die uit andere sporen waren verbonden. Mede door de aanwezigheid van andere schimmels en verterende vezels van de wattenproppen was het onmogelijk het kiemingsproces te reconstrueren.

Infectie en groei van de brandschimmel in gladioleweefsel

Door onderzoek van laterale en dwarscoupes door stolonen met jonge infecties (3.2.2) kon het binnendringen van de parasiet in de waardplant nader worden bestudeerd. Enkele malen werden buiten op de epidermis lange infectiehyfen waargenomen, die zich op een of twee plaatsen door de cuticula boorden en via de middenlamellen tussen twee opperhuidcellen in de intercellulairen van het onderliggende weefsel groeiden (fig. 15A). Daar ontstonden grillig gevormde, vertakte hyfen (fig. 15B en C), die reeds spoedig naar alle zijden, doch vooral in de lengterichting van de stolonen lange, dunne schimmeldraden deden uitgroeien. Op dwarsdoorsnede bleek, dat zij de epidermale laag vrijwel niet binnendrongen. In het onderliggende parenchymatische weefsel ontstonden echter dichte massa's van intercellulair mycelium (fig. 15D), aanvankelijk vrijwel zonder haustoriën, die voor de latere stadia – vooral in het knolvlees – zo karakteristiek zijn. De diameter van de hyfen in de stolonen varieerde van 1,6 tot 2,8 μ (gemiddeld 2,1 μ; n = 20).

Bij microscopisch onderzoek op 16 augustus van de "inoculatie 3 8" (zie tabel 10) bleken alle zeer jonge infecties die konden worden gevonden binnen te dringen via de stomata. Bij vroegere controles was deze wijze van binnendringen nooit waargenomen. Hoewel de infecties op de genoemde datum nog te jong waren om met zekerheid als afkomstig van brandsporen te worden herkend, maakt het verdere verloop van de aantasting bij de op hetzelfde tijdstip geïnoculeerde planten het zeer waarschijnlijk, dat inderdaad sprake was van *Urocystis*-mycelium. Indien dit juist is, moet de conclusie worden getrokken, dat in een bepaald stadium of onder bepaalde omstandigheden de infectie (overwegend?) direct via de cuticula plaats vindt, terwijl de parasiet in andere gevallen uitsluitend via de stomata kan binnendringen. Het ligt voor de hand in dit verband te denken aan de toestand van de stolonen, die aanvankelijk zacht en sappig zijn, doch tegen het einde van het seizoen stug en hard worden. Infectie via de cuticula zal in het laatstgenoemde geval vermoedelijk minder gemakkelijk tot stand kunnen komen.

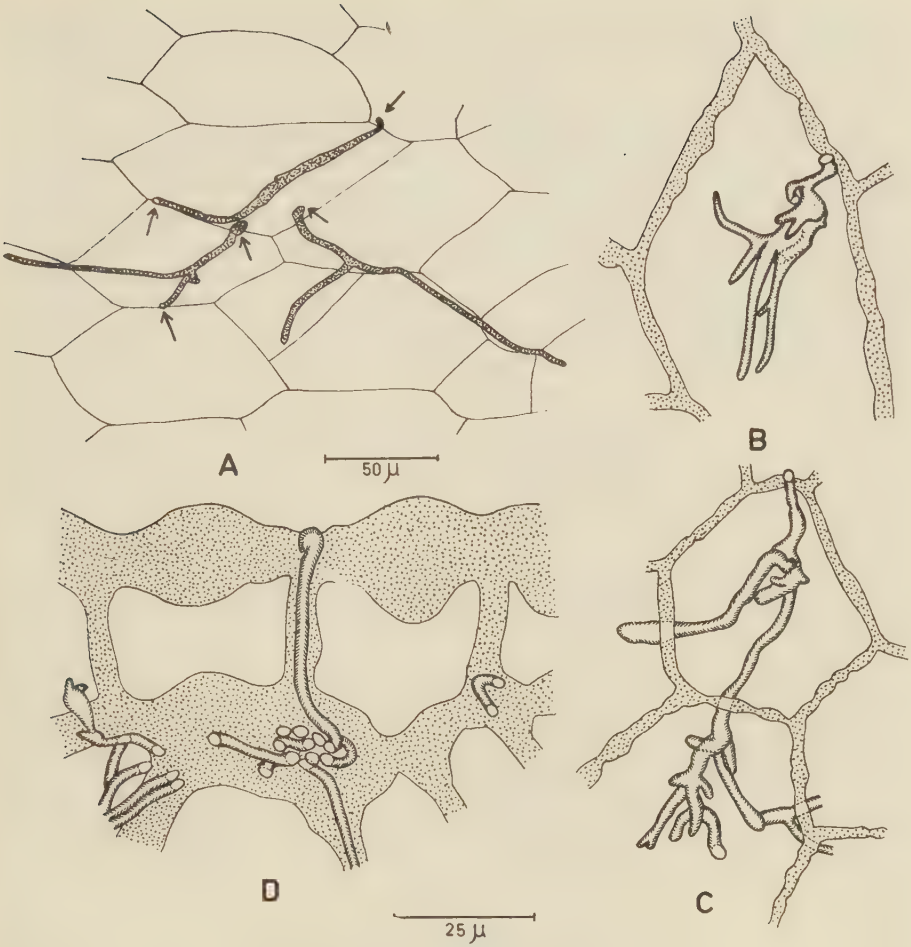


FIG. 15. De infectie en de groei van de brandschimmel in de stolonen.
A: infectiehyfen op de epidermis; pijlen: plaatsen van binnendringen.
B en C: grillig vertakte hyfen in de sub-epidermale laag, direct na de infectie.
D: punt van binnendringen via de cuticula en intercellulaire groei.
Infection and growth of the smut fungus in the stolons.
A: infection hyphae on the epidermis; arrows: points of entry.
B and C: young, strongly branched hyphae in the sub-epidermal layer, directly after infection.
D: point of entry and intercellular growth of the fungus.

Uit de stolonen of eventueel de basale delen van de schedebladen drong de parasiet binnen in de knollen. Naarmate dit in een vroeger stadium gebeurde, kon het mycelium gemakkelijker alle delen van dit orgaan doorgroeien, dus ook het parenchymatische schorsweefsel. Als de knol reeds grotendeels was gevormd, wanneer de schimmel de basale delen bereikte, bleef de groei hoofdzakelijk beperkt tot het vaatbundelweefsel van de stele en tot de bladspoor-

bundels. Tijdens de bewaring in de wintermaanden (S1B) vond eventuele groei uitsluitend plaats in de centrale cylinder. Opvallend was, dat de schimmel slechts sporadisch in de houtvaten werd waargenomen; bij hoge uitzondering werden hierin haustoriën aangetroffen.

In S2 werd het intercellulaire mycelium in dichte massa's in de moederknollen gevonden. De hyfen waren dikker dan die in de stolonen; de diameter varieerde bij een 20-tal bepalingen in het knolweefsel van "Dr. Fleming" van 2,0 tot 4,7 μ (gemiddeld 3,0 μ). De cellen van de waardplant werden door de parasiet omgroeid, zonder dat de eerstgenoemde hier blijkbaar veel hinder van ondervond. De schimmeldraden waren sterk gesepteerd, op veel plaatsen vertakt en ze vormden soms opvallende uitstulpingen. Het meest in het oog lopend waren wel de merkwaardige, grillig gedraaide en veelal vertakte haustoriën, die in de cellen van de gladiool binnendrongen (fig. 16A).

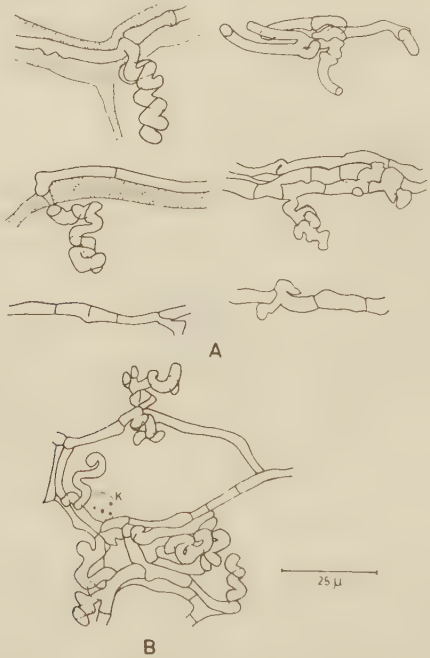


FIG. 16. Het mycelium van de brandschimmel in het knolweefsel.
A: intercellulair mycelium met haustoriën in de oude knollen van S2-planten.
B: stromatische myceliumgroei in jong knolweefsel van een S2-plant, kort voor de sporenvorming. K: kern in gladiolecel.
Mycelium of the smut fungus in corm tissue.
A: intercellular mycelium with haustoria in the old corm of an S2-plant.
B: stromatic mycelium growth in the tissue of the young corm of an S2-plant, shortly before spore formation. K: nucleus of the host plant.

In het weefsel van de jonge knollen van planten in S2 was de concentratie van de schimmel meestal nog veel sterker; om de cellen van de waardplant werden een tot twee hyfen dikke mycelium-lagen gevonden (fig. 16B). De diameter van deze schimmeldraden was iets kleiner dan die in het oude-knol-

weefsel; deze varieerde in dezelfde plant als waarvan hierboven de waarnemingen in de oude knol werden vermeld van 1,9 tot 3,9 μ (gemiddeld 2,6 μ; n = 20).

De parasiet drong in het algemeen vanuit het knolweefsel in het vegetatiepunt en de blaadjes van de jonge knop binnen (fig. 17A en B). Eerst wanneer hij hierin slaagde en door de groei van het blad mee omhoog werd gevoerd, begon het aggressieve stadium van de ziekte. In de jonge, groeiende spruiten bleef de schimmel nooit latent aanwezig, doch hij ging altijd over tot vorming van sporen. Op deze regel werd een uitzondering waargenomen, namelijk wanneer knollen met mycelium in de vegetatiepunten werden uitgeplant bij een bodemtemperatuur van 24 °C of hoger (3.3.4, blz. 49 e.v.).

In de intercellulairen van het bladweefsel vormde de parasiet aanvankelijk dichte, stromatische massa's, welke uitwendig als witachtige strepen zichtbaar werden. Haustoriën waren in deze delen minder talrijk en veel kleiner dan in de knollen. Spoedig werden de cellen van het mesofyl samengedrukt door de voortschrijdende groei van de schimmel, terwijl tegelijkertijd de vorming van sporen begon. Reeds na enkele dagen werden zo grote, in de lengterichting van het blad verlopende holten gevormd, die geheel met brandsporen waren gevuld (fig. 17C).

Bij enkele cultivars werd het bladweefsel in minder sterke mate gedesorganiseerd. Zo werd dikwijls waargenomen, dat de strepen in de bladeren van "Firmament" minder opvallend en lichter van kleur waren dan bij de meeste andere rassen het geval was. Ook stierven de planten minder snel af. Na openbreken van de sori kwam een grijsbruine sporenmassa aan het licht. Bij microscopisch onderzoek bleek, dat de brandsporen bij deze planten uitsluitend in de intercellulaire holten werden gevormd (fig. 17D). De parasiet verdrukte de cellen van de waardplant niet, waardoor deze blijkbaar minder in hun functies werden gestoord. De massa in de sori bestond dus uit een mengsel van sporen en cellen van het bladweefsel, hetgeen de lichtere kleur verklaarde.

Een afbeelding van de sporen van *U. gladiolicola* is in fig. 18 weergegeven.

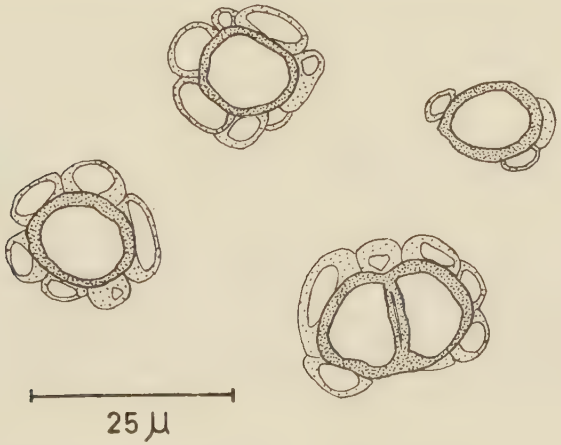


FIG. 18. Sporen van *Urocystis gladiolicola*.
Spores of Urocystis gladiolicola.

3.6.2. *De levensduur van de brandsporen*

In 3.1.2 (blz. 17 e.v.) is aangetoond, dat brandsporen in de grond, in het groeiseizoen volgende op dat waarin ze zijn gevormd, hun infectievermogen niet hebben verloren. In een van de inoculatieproeven werd geen infectie verkregen met brandsporen die waren verzameld uit gedroogd, aangetast plantmateriaal, dat drie jaar lang bij kamertemperatuur was bewaard. Planten uit knollen, die op hetzelfde tijdstip waren geïnoculeerd met een jaar oude sporen, werden wel ziek. Hieruit mag worden geconcludeerd, dat de sporen in droge toestand bij 15-20 °C betrekkelijk snel hun vitaliteit verliezen.

Met het oog op eventueel te nemen cultuurmaatregelen was het gewenst nader onderzoek te verrichten naar de levensduur van brandsporen in de grond. In de herfst van 1958 werden grote hoeveelheden sporen, die in de voorafgaande zomer waren verzameld, homogeen gemengd met zandgrond uit Lisse en met zavelgrond uit West-Friesland. De op deze wijze besmette aarde werd in bloempotten gedaan en in het open veld ingegraven. In de daaropvolgende jaren werd telkens een deel van deze grond gebruikt om daarin knolletjes of kralen van een vatbare cultivar te planten. In de loop van het groeiseizoen werden de jonge knollen onderzocht op het voorkomen van macro- en microscopische S1-symptomen.

In 1959, 1960 en 1961 werd steeds een zeer zware infectie waargenomen, waaruit de conclusie mag worden getrokken, dat sporen van *U. gladiolicola* zowel in zavel- als zandgrond minstens drie jaar in leven kunnen blijven.

In de gladiolecultuur wordt dikwijls een vruchtwisselingscyclus gehandhaafd van vier à vijf jaar. De mogelijkheid, dat sporen afkomstig van niet uit het gewas verwijderde zieke planten in een daaropvolgende aanplant van gladiolen infecties tot stand brengen, kan op grond van de beschikbare gegevens niet worden uitgesloten. De intensieve controle die in ons land te velde op de brandziekte wordt uitgeoefend en de strenge maatregelen die worden getroffen wanneer de ziekte wordt geconstateerd, maken het echter vrijwel onmogelijk, dat infectie in besmette grond een rol van enige betekenis speelt.

Na hetgeen in het voorgaande bekend is geworden omtrent het verloop van de aantasting van gladiolen door brand is het duidelijk, dat het veelal zo gemakkelijk gegeven advies "aangetaste planten zorgvuldig verwijderen en vernietigen" in dit geval slechts een betrekkelijke waarde heeft. Daar immers de beide stadia S1 en S2 meestal tegelijkertijd in een partij zullen optreden, waarbij de S1- en eventueel aanwezige S2U-symptomen in de praktijk gewoonlijk aan de waarneming ontsnappen, zullen de resultaten van een nauwgezet doorgevoerde selectie, in ieder geval op korte termijn, meestal teleurstellend zijn. Het nut van deze maatregel is voornamelijk, dat besmetting van de grond wordt voorkomen.

De drie punten, waarop de bestrijding gericht dient te zijn, springen onmiddellijk in het oog bij beschouwing van het chematische overzicht van het verloop van de ziekte in fig. 6. Ter voorkoming van S1 moeten ten eerste eventueel in de grond aanwezige sporen onwerkzaam worden gemaakt en ten tweede besmette knollen van de parasiet worden bevrijd. Daar besmetting van de grond bij de teelt van gladiolen in ons land ongetwijfeld van ondergeschikt belang is (3.6.2, blz. 62), werd aan dit aspect van de bestrijding minder aandacht geschonken. In de praktijk is de besmetting van het plantmateriaal het belangrijkste middel waardoor de ziekte zich kan handhaven. Het doden van aanhangende sporen of van sporen aanwezig in sori in de knolschubben bleek dan ook essentieel te zijn om de ziekte volledig te onderdrukken. Het derde punt, waarop de bestrijding kan worden gericht, vormt het mycelium van de parasiet in de knollen. Verschillende mogelijkheden om de schimmel in dit stadium te inactiveren werden uitvoerig onderzocht.

Daar de vroegbloeiende gladiolen anders op bepaalde bestrijdingsmethoden reageren dan de grootbloemige, zijn deze in het laatste hoofdstuk apart behandeld.

4.1. MAATREGELEN TER VOORKOMING VAN S1

4.1.1. *Grondontsmetting*

Op hetzelfde proefveld waar in 1957 het optreden van S1 bij "Dr. Fleming" werd bestudeerd (3.1.2, blz. 17) werden tegelijkertijd enkele bestrijdingsproeven uitgevoerd.

Om na te gaan in hoeverre plantgoedontsmetting afdoende bescherming zou kunnen geven tegen infectie door sporen die in de grond aanwezig zijn, werden "Dr. Fleming"-knollen (4-5 cm) vlak voor het planten ontsmet op de tegen andere gladioleziekten gebruikelijke wijze, nl. door onderdompeling in een kwikbevattende oplossing – 1% Aamersil, 1/2 uur – en daaropvolgende bepoedering met thiram[1] – 5 gram van een produkt met 80% actieve stof per kg knollen. Vergelijking van de oogst van deze knollen met die uit onbehan-

[1] De bepoedering met thiram wordt geadviseerd in die gevallen waar men aantasting door droogrot (*Stromatinia gladioli*) vreest.

TABEL 17. De invloed van ontsmetting van met brandsporen besmette grond met verschillende fungiciden op het optreden van infectie. Alle middelen, met uitzondering van Brassicol en hexachloorbenzeen, werden ongeveer zes weken voor het planten toegepast.
The effect of soil treatment with different fungicides on the degree of infection in contaminated soils. All products applied about six weeks before planting, except Brassicol and hexachlorobenzene.
Formaline: 40% formaldehyde; CBP 55: chloorbroompropeen; N 521: 85% 3,5-dimethyltetrahydro-1,3,5,2 H-thiadiazine-2-thion; Trapex: 20% methylisothiocyanaat in xylol; Brassicol: 20% pentachloornitrobenzeen.

Jaar-cultivar-aantal herhalingen en hoeveelheid per nummer *Year-cultivar-replicates and number per replicate*	Grondbehandeling *Soil treatment*	Dosering *Dosage*	Na het rooien, gemiddeld *After lifting, mean*			Knollen zonder schubsori, % S2-planten in het volgende groeiseizoen *Corms without sori in the scales, % S2-plants in the next season*
			aantal knollen *number of corms*	% met schub-sori *% with sori in the scales*	zonder schubsori, % met mycelium (S.M.) 25 kn. per herhaling *without sori in the scales, % with mycelium (S.M.) 25 corms per replicate*	
1957						
"Dr. Fleming", 5–6 cm	onbehandeld/*control*	—	183	34	49	43
3 × 200 knollen	formaline[1]	260 ml/m²	180	1	5	6
3 × 200 corms	CBP 55[1]	110 ml/m²	184	4	7	7
	N 521 (mylone)	30 g/m²	183	6	9	10
1958						
"Dr. Fleming", 3–4 cm	onbehandeld/*control*	—	150	0,7	16	13
3 × 200 knollen	formaline[1]	215 ml/m²	157	0,0	0	2
3 × 200 corms	formaline[2]	215 ml/m²	154	0,2	1	2
1960						
"Dr. Fleming"	onbehandeld/*control*	—	135	3,4	18,4	
kralen *cormels*	formaline[2]	290 ml/m²	108	0,9	5,6	
5 × 50 gram	Trapex geïnjecteerd/ *soil-injection*	80 ml/m²	148	0,0	3,2	
	hexachloorbenzeen 30% regelbehandeling[3] *row-application*[3]	20 g/str.m *per m. run*	120	0,0	4,8	
	Brassicol[4]	75 g/m²	132	0,4	3,2	

[1] Geabsorbeerd aan vermiculiet uitgestrooid en ingefreesd/*Absorbed in vermiculite, mixed with the soil by rototilling.*
[2] Ingespoeld met veel water/*Drenched with water.*
[3] Poeder voor het planten in de opengetrokken regel gestrooid/*Powder sprinkled in the open furrow just before planting.*
[4] Uitgestrooid en ingefreesd vlak voor het planten/*Mixed with the soil by rototilling just before planting.*

delde partijen wees uit, dat van enige invloed van deze behandeling op het optreden van S1 nauwelijks sprake was.

In 1957, 1958 en 1960 werd grondontsmetting met verschillende fungiciden toegepast. De beide eerste jaren op natuurlijk besmet terrein, in 1960 op grond die kunstmatig was besmet door gemalen en gedroogde brandzieke planten over het veld te verspreiden en in te frezen. Formaline, N521, CBP 55 en Trapex werden omstreeks zes weken voor het planten op de in de toelichting bij tabel 17 beschreven wijze toegepast. Hexachloorbenzeen en Brassicol werden tijdens het planten aangewend. In 1957 en 1958 werden knollen, in 1960 kralen van "Dr. Fleming" gebruikt.

De groei en opbrengst van de planten was in alle drie jaren in de ontsmette objecten gelijk aan of iets beter dan die in de controles. De opgetreden infectie werd beoordeeld op grond van de macro- en microscopische symptomen na het rooien en gedeeltelijk ook door de knollen in het volgende seizoen weer uit te planten en het percentage S2-planten vast te stellen.

Het resultaat is vastgelegd in tabel 17, waaruit blijkt dat met alle middelen een goede bestrijding van brand werd verkregen.

Voorzover in de praktijk ooit behoefte mocht bestaan aan een middel om de sporen in de grond te bestrijden, is Brassicol, in verband met de betrekkelijk lage prijs en de eenvoudige toepassingswijze, het daarvoor in de eerste plaats in aanmerking komende middel. Een regelbehandeling, toegepast bij het planten, zal in dat geval de kosten nog kunnen drukken en waarschijnlijk het resultaat nog verbeteren.

4.1.2. *Plantgoedontsmetting*

Wanneer brandsporen uitwendig aan het plantmateriaal kleven ligt het voor de hand om door middel van een ontsmetting te voorkomen, dat infectie op kan treden.

In 1957 stonden kralen en knollen van "Van Tienhoven" ter beschikking die alle op natuurlijke wijze met brandsporen waren besmet, doch waarin vrijwel geen macro- en microscopische S1-symptomen voorkwamen. Dit materiaal werd gebruikt om na te gaan of enkele tegen andere gladioleziekten toegepaste fungiciden, ook in dit geval resultaat af zouden kunnen werpen.

De proeven werden uitgevoerd volgens de in tabel 18 verstrekte gegevens en in een blokkenschema uitgeplant.

Na het rooien en schoonmaken in de herfst bleken de "knollen van knollen" vrij te zijn van macroscopische symptomen; de "knollen van kralen", afkomstig van onbehandelde en met captan ontsmette partijtjes, vertoonden daarentegen in circa 10% van de gevallen schubsori. Bij microscopisch onderzoek (S.M.) bleek, dat de knollen met sori in de schubben bijna alle ook mycelium in het knolvlees bevatten. Het verdere onderzoek van knollen zonder sori en de nateelt daarvan in 1958 wees uit, dat ontsmetting met een oplossing van de organische kwikverbinding of van het fenolderivaat het optreden van S1 vrijwel volledig had voorkomen. Captan had hier, evenals tegen de meeste andere gladioleziekten, geen of nauwelijks effect.

TABEL 18. De invloed van een ontsmetting voor het planten op het tot stand komen van infecties in met brandsporen besmette knollen en kralen van "Van Tienhoven". Beide proeven opgezet met twee herhalingen, resp. 2 maal 100 knollen en 2 maal 50 g kralen per behandeling.
The effect of a pre-planting disinfection of gladiolus corms and cormels contaminated with smut spores on the incidence of infection in the next season. Cultivar 'Van Tienhoven', both experiments with two replicates, twice 100 corms (8–9 cm) and twice 50 g cormels per treatment resp.
Aamersil: 2,75% ethylkwikverbinding/*ethylmercury compound*
Aaglitan: 20% fenolverbinding/*phenol compound*
Orthocide 50: 50% captan.

Behandeling voor het planten in 1957 *Treatment before planting in 1957*	Na het rooien, som van beide herhalingen *After lifting, sum of two replicates*				Knollen zonder schubsori, % S2-planten in de zomer van 1958 *Corms without sori in the scales, % S2-plants in the summer of 1958*
	Aantal knollen *Number of corms*	% met schubsori *% with sori in the scales*	Zonder schubsori *Without sori in the scales*		
			Aantal microsc. onderz. (S.M.) *Number of corms for microsc. examination (S.M.)*	% met mycel. *% with mycelium*	
Knollen/*Corms*					
Onbeh./*Control*	196	0	50	12	8
Aamersil, 1%–½ u./*hr.*	200	0	50	0	0
Aaglitan, 2%–½ u./*hr.*	200	0	50	2	0
Orthocide 50, 1%–½ u./*hr.*	200	0	50	4	5
Kralen/*Cormels*					
Onbeh./*Control*	738	11,8	345	14,5	–
Aamersil, 1%–2 u./*hrs.*	728	0,0	50	0,0	0,1
Aaglitan, 2%–2 u./*hrs.*	756	0,7	100	0,0	0,0
Orthocide 50, 1%–2 u./*hrs.*	778	9,8	300	14,7	–

4.2. MAATREGELEN TER VOORKOMING VAN S2

4.2.1. *Warmwaterbehandeling*

Terwijl het tot stand komen van de infectie bij gladiolebrand analogieën te zien geeft met de steenbranden van tarwe en gerst, vertoont de wijze van overwinteren in S1B, in de vorm van latent mycelium in het knolvlees, sterke overeenkomst met de stuifbranden van de genoemde gewassen.

Tot voor kort was de enig bekende methode ter bestrijding van de laatstgenoemde graanziekten de eind vorige eeuw door JENSEN ontwikkelde warmwaterbehandeling van het zaaizaad. Het lag voor de hand om ter onderdrukking van S2 van brand in gladiolen de mogelijkheden van deze methode te onderzoeken.

VAN POETEREN (1928) vermeldt, dat bij *G.* × *nanus* "Peach Blossom" in 1925 en 1926 gunstige resultaten werden verkregen door een warmwaterbehandeling gedurende een half uur bij 43,3 C, vlak voor het planten toegepast. Gezien de hierna te bespreken proefnemingen moet de suggestie, dat hier van bestrijding sprake is geweest, worden verworpen. Onbekendheid met

het aantastingsverloop en waarschijnlijk onvoldoende controles zullen tot dit misverstand hebben geleid.

In 1955 werd met "Dr. Fleming"-knollen (3-4 cm), waarvan circa 16% sori in het knolvlees bevatte, een proef opgezet om de invloed van een warmwaterbehandeling op het optreden van brand na te gaan. Steeds werden 400 knollen gedurende een half uur bij respectievelijk 40, 42, 43½, 45 en 47 °C behandeld. Door bijzondere omstandigheden konden geen waarnemingen te velde worden verricht; de resultaten na de oogst gaven evenwel een duidelijke aanwijzing, dat uitsluitend de behandeling bij 47 °C enig effect op de ziekte had gehad.

Nadat het verloop van de aantasting in grote lijnen bekend was geworden, werden in 1958 opnieuw proeven uitgevoerd ter bestrijding van de ziekte in S2, waarbij een warmwaterbehandeling gedurende een half uur bij 47 °C als uitgangspunt werd gekozen. Steeds werd de behandeling uitgevoerd in vaten met water dat intensief werd geroerd en door thermostatisch geregelde elektrische verwarmingselementen nauwkeurig op de gewenste temperatuur werd gehouden (afwijking minder dan 0,1 °C). Na het inbrengen van de knollen werd de ingestelde temperatuur meestal binnen vijf minuten weer bereikt. De behandelingsduur werd gerekend te beginnen, zodra dit het geval was. Na afloop van de behandeling werden de knollen gedroogd in een goed geventileerde ruimte bij 20 of 25 °C.

Dikwijls moesten de proeven worden uitgevoerd met minder geschikt materiaal of op kleinere schaal dan wenselijk was geweest, daar geen grote, zwaar aangetaste partijen ter beschikking stonden. De laatste jaren van het onderzoek werden in het voorjaar kunstmatig besmette kralen en knollen uitgeplant om op deze wijze in de behoefte te kunnen voorzien.

Warmwaterbehandeling van kleine knollen van de cultivar "Van Tienhoven"

Kleine knollen (3-4 cm) van de cultivar "Van Tienhoven", zonder opvallende schubsori, waarvan – volgens de S.M. bepaald – 14,5% brandmycelium bevatte, werden vlak voor het planten met warm water behandeld. De volgende objecten werden vergeleken: 80 min. 46 °C, 30 en 60 min. 47 °C, 30 min. 48 ° C, 30 min. 20 °C en onbehandeld; per object 50 knollen. Tijdens de groei werden S2-planten verwijderd en na het rooien werden de jonge knollen microscopisch (S.M.) op de aanwezigheid van het mycelium van de parasiet onderzocht.

Het resultaat wees uit dat een behandeling gedurende een half uur bij 47 °C het voorkomen van S2-planten geheel had onderdrukt, terwijl na 80 min. 46 °C slechts één aangetaste plant werd gevonden. Alle hogere doseringen, gerekend naar tijdsduur en temperatuur, hadden eveneens een volledige bestrijding van de brandziekte in dit stadium gegeven.

De oogst van behandelde partijen was op één knol na gezond. Daaruit mag de conclusie worden getrokken, dat het mycelium door de behandeling niet slechts in zijn vitaliteit en ontwikkeling was geremd, zoals voor stuifbrand van tarwe en gerst wel is verondersteld (Niemann, 1956), doch werkelijk was gedood. Als het eerste het geval was zou de schimmel immers in de jonge knollen moeten zijn teruggevonden.

De volgende waarneming bevestigt deze conclusie. In het voorjaar van 1958

werden knollen van "Van Tienhoven", met brandmycelium tot in de vegetatiepunten, gedurende een half uur behandeld in warm water van 46 °C en vervolgens buiten geplant. In de loop van de zomer werden geen S2-planten gevonden. Enkele malen werden coupes gemaakt van het verbindingsstuk tussen de oude en de jonge knol. Bij microscopisch onderzoek daarvan bleek, dat de schimmel uitsluitend voorkwam in de oude weefsels. In het grensvlak was het mycelium door de groei van de waardplant uiteen getrokken, zodat enkele losse hyfestukken in de basis van de nieuw gevormde delen konden worden waargenomen. De schimmeldraden kleurden zeer goed met katoenblauw, doch ze waren dikwijls enigszins gerimpeld en in elkaar gedrukt. Ook dit wijst erop, dat men de parasiet door de warmwaterbehandeling werkelijk doodt.

Warmwaterbehandeling van grote knollen van de cultivar "Van Tienhoven"

Ook met grote knollen van "Van Tienhoven" zonder opvallende schubsori werd in 1958 nog een proef uitgevoerd. Voor elk object werden 60 knollen gebruikt van 8-10 cm, 70 van 10-12 cm en 70 van 12-14 cm; vergeleken werden knollen, die gedurende 30 en 60 min. in water van 47 °C waren gedompeld, met onbehandelde knollen. Ook in deze proef werd de behandeling kort voor het planten uitgevoerd. Na de behandelingen werden geen S2-planten gevonden. Het microscopische onderzoek na het rooien en de nateelt van de resterende knollen in het volgende seizoen wezen uit, dat in dit geval ruim 2,5% van de dochterknollen na de oogst toch weer mycelium bevatte. In 4.3.1 (blz. 78 e.v.) zal worden aangetoond, dat dit nieuwe infecties waren, tot stand gebracht door sporen die de warmwaterbehandeling hadden overleefd.

Na behandeling bij 47 °C werden meer knollen gerooid dan er waren geplant. Het bleek nl. dat in dit geval veel grote exemplaren (> 10 cm) twee spruiten per plant hadden gevormd; bij die van 8-10 cm was dit niet het geval. Blijkbaar had de hoge temperatuur, toegepast vlak voor het planten, rustbrekend gewerkt op knoppen die normaal slapend zouden zijn gebleven. Bij een behandeling in december of januari werd dit verschijnsel nooit geconstateerd.

De invloed van tijdsduur en temperatuur op het resultaat van de behandeling met warm water

Om de invloed van tijdsduur en temperatuur op het effect van de warmwaterbehandeling nader te bestuderen werden in december 1958 grote en kleine knollen van "A. Nobel" (per behandeling respectievelijk 10 knollen van 10-12 cm en 50 knollen van 3-4 cm) gedurende verschillende tijden behandeld in water van 44, 45, 46 en 47 °C. In deze proeven werd aan het water 1/4% Aretan toegevoegd. De opkomst van de kleine knollen was na de lange dompelingen bij 44 en 45 °C slecht, hetgeen moet worden toegeschreven aan beschadiging door de toegevoegde kwikverbinding. Een betrouwbare beoordeling van het effect van de hoge temperatuur op het mycelium van de brandschimmel was daardoor niet meer mogelijk; de waarnemingen aan laatstgenoemde partij blijven daarom verder onbesproken. Bij de grote knollen was de opkomst wel volledig.

Het aantal planten binnen ieder object was te klein om nauwkeurig de doseringen, die volledige bestrijding van het mycelium in de knollen bewerkstelligen, te kunnen vaststellen. Bij 46 en 47 °C bleek het effect van de warmwa-

terbehandeling toe te nemen met de tijdsduur, doch zelfs na een half uur bij 47 °C werd nog een S2-plant gevonden. Ook langdurige behandeling bij 44 en 45 °C onderdrukte de aantasting in sterke mate. De ervaring in deze en soortgelijke proeven opgedaan wees erop, dat de gevoeligheid van de parasiet voor de warmwaterbehandeling wisselde van partij tot partij en in hetzelfde materiaal zelfs van knol tot knol. Het was daarom gewenst om na te gaan in hoeverre voor- en nabehandeling van invloed zijn op het resultaat.

De invloed van de bewaartemperatuur voor en na de warmwaterbehandeling

In 1959 werd de invloed van de bewaartemperatuur onderzocht. Knollen van "A. Nobel" (5-7 cm) werden voor de warmwaterbehandeling gedurende 6 weken bewaard bij temperaturen tussen 9 en 34 °C en daarna negen weken bij 17 °C, of omgekeerd, eerst zes weken bij 17 °C en naderhand negen weken bij de verschillende temperaturen. Ter controle werden partijtjes gedurende zes weken bij 9, 17 en 34 °C bewaard. Nadere gegevens zijn opgenomen in de toelichting bij tabel 19, waarin de resultaten van deze proef zijn samengevat.

TABEL 19. De invloed van de bewaaromstandigheden voor en na de warmwaterbehandeling op de overlevingskansen van brandmycelium in gladioleknollen. Bij microscopisch onderzoek (S.M.) van 100 knollen voor de behandeling bleken 30 mycelium te bevatten. Som van twee herhalingen, per object 2 maal 50 knollen (5–7 cm). W.B. = warmwaterbehandeling gedurende een half uur bij 46 °C in ¼ % Aretan.
The effect of storage conditions before and after hot-water treatment on the survival of smut mycelium in gladiolus corms. Microscopical examination (S.M.) of 100 corms before treatment revealed 30 with mycelium. Cultivar 'A. Nobel'; sum of two replicates, twice 50 corms (5–7 cm) per treatment. H.T. = hot-water treatment for half an hour in ¼ % Aretan at 46 °C.

Bewaartemperatuur (°C) gedurende *Storage-temperature (°C) during*		Totaal aantal planten *Total number of plants*	Aantal S2-planten *Number of S2-plants*
zes weken voor de W.B. *six weeks before H.T.*	negen weken na de W.B. *nine weeks after H.T.*		
9	17	102	0
17	17	93	0
25½	17	97	16
34	17	103	0
17	9	98	0
17	25½	98	0
17	34	99	0
Controles (zonder W.B.) *Controls (without H.T.)*			
9	17	104	32
17	17	107	31
34	17	101	0

De uitkomst was wel zeer onverwacht. Uit onbehandelde, gedurende zes weken bij 34 °C bewaarde knollen, groeiden geen S2-planten. Na bewaring bij 25½ °C gevolgd door warmwaterbehandeling, was het aantal S2-gevallen daarentegen slechts tot ongeveer de helft van dat in de beide andere controles teruggebracht. Alle overige partijen bleven te velde vrij van brand.

De enig mogelijke verklaring leek te zijn, dat bewaring gedurende zes weken bij 34 °C het mycelium in de knollen had gedood (onder 4.2.3 wordt deze mogelijkheid verder onderzocht) en dat na bewaring bij 25½°C de resistentie van de parasiet tegen de warmwaterbehandeling was verhoogd. In het laatste geval waren de knollen voor de behandeling zeer sterk uitgedroogd, dank zij de zeer lage relatieve luchtvochtigheid (waarschijnlijk 25 à 30%) en de intensieve ventilatie in de bewaarruimte. Het lag dan ook voor de hand om verband te zoeken tussen de verminderde gevoeligheid van de schimmel en het vochtgehalte van de knollen.

Indien dit verband inderdaad bestaat, dan geeft deze proef dus geen aanwijzingen, dat de bewaartemperatuur voor en na de warmwaterbehandeling direct van invloed is op de overlevingskansen van de parasiet.

De invloed van sterke uitdroging van de knollen vóór de warmwaterbehandeling

Om de invloed van het vochtgehalte van het knolvlees te onderzoeken werden in 1960 de schubben van grote knollen van "Dr. Fleming" (8-10 en 12-14 cm) verwijderd, waarna de opperhuid langs de rand werd afgeschild, om tijdens de daaropvolgende bewaring bij 25½°C verzekerd te zijn van sterke uitdroging van het knolvlees. Dit bleek een te zware ingreep te zijn geweest: van de op deze wijze mishandelde knollen – al of niet met warm water behandeld – kwam vrijwel niets op.

In de winter van 1960-1961 werd opnieuw een proef uitgevoerd om de invloed van de genoemde factor op de overlevingskans van het brandmycelium tijdens de warmwaterbehandeling te onderzoeken. Een partij "Dr. Fleming" (3-4 cm), waarvan op grond van microscopisch onderzoek (S.M) van 25 knollen mocht worden aangenomen dat circa 16% mycelium bevatte, werd in zes groepen van 200 knollen verdeeld. Het gewicht van ieder partijtje werd nauwkeurig op 163 gram gebracht.

Vier groepen, waaronder een verpakt in plastic-folie, werden gedurende zes weken bewaard bij 25½°C in een ruimte met zeer sterke ventilatie en lage relatieve luchtvochtigheid (variërend van 24 tot 29%). De resterende 2 maal 200 knollen werden gebracht in een cel bij 9 °C met hoge luchtvochtigheid (85-90%). Na afloop van deze periode bleek, dat alle bij 25½ °C bewaarde groepen, dus ook de in plastic verpakte, 10% van het oorspronkelijke gewicht hadden verloren. De beide partijtjes, die bij 9 °C waren bewaard, hadden nog vrijwel hetzelfde gewicht als voor de bewaring. Een van de sterk gedroogde partijen werd 24 uur in water geweekt; vervolgens werd op 27 januari de warmwaterbehandeling gedurende een half uur bij 46 °C toegepast, volgens het schema in tabel 20. Na afloop werden de knollen in kistjes geplant, die in een kas bij 20 °C werden geplaatst. Enkele maanden later werden de opkomst en het aantal S2-planten bepaald. Uit het resultaat, weergegeven in tabel 20, bleek het volgende.

Na sterke uitdroging in de periode voorafgaande aan de warmwaterbehandeling was de overlevingskans van het brandmycelium in het knolvlees zeer groot (zie objecten I en III). Door de gedroogde knollen eerst 24 uur in water te weken werd de verminderde gevoeligheid van de schimmel voor de hoge temperatuur grotendeels opgeheven; het optreden van S2-planten werd daardoor echter niet geheel onderdrukt (object II). Na bewaring in vochtige lucht

Tabel 20. De invloed van sterke uitdroging van gladioleknollen op de overlevingskans van het brandmycelium tijdens een daaropvolgende warmwaterbehandeling. Per behandeling 200 knollen van 3–4 cm. W.B. = warmwaterbehandeling gedurende een half uur bij 46 °C.
The effect of severe desiccation of gladiolus corms on the survival of smut mycelium during subsequent hot-water treatment. Cultivar 'Dr. Fleming', 200 corms of 3–4 cm per treatment. H.T. = hot-water treatment for half an hour at 46 °C.

Bewaring gedurende zes weken voor de W.B. *Storage for six weeks before the H.T.*	Behandeling *Treatment*	Totaal aan planten *Total number of plants*	Aantal S2-planten *Number of S2-plants*
I. 25½ °C, sterke ventilatie, in droge lucht *25½ °C, strong ventilation, in dry air*	W.B. *H.T.*	196	12
II. Als I, daarna 24 uur in water *As I, afterwards 24 hours in water*	W.B. *H.T.*	195	4
III. Als I, knollen verpakt in plastic *As I, corms packed in plastic bags*	W.B. *H.T.*	198	21
IV. 9 °C, in vochtige lucht *9 °C, in humid air*	W.B. *H.T.*	198	0
V. Als I *As I*	onbehandeld *control*	194	31
VI. Als IV *As IV*	onbehandeld *control*	196	50

bij 9 °C, gevolgd door warmwaterbehandeling, werden in het geheel geen planten met sori in de bladeren waargenomen (object IV).

Op grond van de resultaten van de in het voorgaande besproken proeven kunnen de volgende conclusies worden getrokken. Brandmycelium in gladioleknollen van de grootbloemige cultivars kan afdoende worden bestreden door een behandeling gedurende een half tot een uur in water van 46 of 47 °C. Te sterke uitdroging van de knollen voor de warmwaterbehandeling vergroot de overlevingskansen van de parasiet.

Effect van de warmwaterbehandeling op de gladiool

Grootbloemige-gladioleknollen kunnen de warmwaterbehandeling bij 47 °C in het algemeen zeer goed verdragen. Bij het zogenaamde "koken" van andere bolgewassen wordt steeds Aretan of Germisan aan het warme water toegevoegd om verspreiding van andere ziekteverwekkers (vooral *Fusarium*-soorten) te voorkomen. Bij gladiolen werden aanwijzingen verkregen, dat de genoemde fungiciden soms aanleiding geven tot beschadiging van de knollen, indien deze na de warmwaterbehandeling weer moeten worden gedroogd. Door de gladiolen snel te drogen na de dompeling in warm water en de ontsmetting vlak voor het planten uit te voeren, kon de uitbreiding van andere ziekten ook worden tegengegaan.

Op 18 oktober 1957 werden knollen van vijf verschillende cultivars van de oogst 1956, die een half jaar of langer bij 2 °C waren bewaard, gedurende ½, 1 en 2 uur behandeld in warm water bij de temperaturen 43½, 45, 47 en 48 °C. Direct daarna werden ze uitgeplant in een warme kas. Zelfs na deze buitengewoon ongunstige voorbehandeling gaf de hoge temperatuur geen aanleiding tot ernstige beschadiging. Bij enkele cultivars kwamen de planten trager op naarmate de tijdsduur van dompeling langer en de temperatuur hoger

was geweest; na twee maanden waren de verschillen met de controles echter gering.

Door Beijer (1960) is een methode ontwikkeld om onder Nederlandse omstandigheden in mei grootbloemige gladiolen in de kas in bloei te brengen. Na overleg met genoemde auteur werden in 1958 knollen van een drietal cultivars, na een warmwaterbehandeling te hebben ondergaan, opgenomen in de broeiproeven.

Twee van de drie rassen bleken na een behandeling gedurende een half en een uur bij 47 °C vollediger in bloei te komen, doordat minder uitval optrad door andere gladioleziekten (in hoofdzaak *Botrytis gladiolorum*); de derde cultivar reageerde niet op de warmwaterbehandeling. Bij een cultivar was de bloei enkele dagen later dan in de controles; de beide andere gaven geen verschuiving van het bloeitijdstip te zien. In de daaropvolgende jaren werden van alle voor de broeiproeven gebruikte rassen ook met warm water behandelde objecten opgenomen. Meestal had de toepassing van een uur bij 47 C een gunstig effect op het percentage planten, dat in bloei kwam; enkele cultivars gaven echter minder goede resultaten (Beijer, 1960).

Bij de normale cultuur treden deze verschillen niet of nauwelijks op. Om ieder risico van beschadiging te vermijden dient de warmwaterbehandeling bij voorkeur in december of januari te worden gegeven, daar de rust van in Nederland gegroeide gladiolen in die periode dikwijls nog niet geheel gebroken is. Sterke uitdroging van de knollen voor de behandeling dient te worden voorkomen. Na het rooien, drogen en schoonmaken kunnen zij daarom het beste worden bewaard bij de gebruikelijke temperaturen, nl. tussen 10 en 17 °C.

Praktische toepassing van de warmwaterbehandeling bij gladiolen vergeleken met die bij tarwe en gerst

Het effect van een warmwaterbehandeling bij de bestrijding van stuifbrand van tarwe en gerst wordt mede bepaald door het vochtgehalte van het zaad. Bij veel moderne methoden is het voorschrift, dat voorafgaande aan de eigenlijke behandeling een kortere of langere periode in water moet worden geweekt. Talloze onderzoekingen zijn verricht om te komen tot een combinatie van tijdsduur en temperatuur bij het voorweken met die bij de eigenlijke behandeling, welke een afdoende brandbestrijding verenigt met praktische toepasbaarheid op grote schaal en geringe beschadigingskansen voor het zaad. Het drogen na de behandeling bepaalt mede in belangrijke mate of de opkomst in nadelige zin wordt beïnvloed.

Om de toepassing van de warmwaterbehandeling op grote hoeveelheden zaad te vereenvoudigen, zijn vele variaties in de methodiek onderzocht, o.a. een warme behandeling van bevochtigd zaad, doorleiden van waterdamp van 50 tot 53 °C en – in tropische landen – het blootstellen van voorgeweekt zaad aan het zonlicht. Voor recente overzichten van de ontwikkeling op het gebied van stuifbrandbestrijding door middel van hoge temperaturen moge worden verwezen naar Niemann (1956) en Fischer & Holton (1957). Onder 4.2.2 (blz. 73) wordt nader ingegaan op de nieuwste inzichten, die door onderzoekingen in het laatste decennium zijn verkregen.

Ondanks het vele werk dat is verricht omtrent de bestrijding van stuifbrand van tarwe en gerst door middel van een warmwaterbehandeling, blijven aan

iedere methodiek bezwaren kleven die een algemene toepassing in de praktijk belemmeren. Bij de brandziekte van gladiolen ligt dit, althans bij de grootbloemige cultivars, om de volgende redenen veel eenvoudiger.

a. De Nederlandse bloembollentelers bezitten dikwijls de benodigde "kookketels" om de warmwaterbehandeling uit te kunnen voeren. Bovendien beschikken zij over de nodige ervaring, omdat veel bolgewassen op deze wijze moeten worden behandeld tegen verschillende plagen.
b. Bij de grootbloemige gladiolen wordt een praktisch volledige bestrijding van de ziekte in S2 verkregen door een behandeling gedurende een half tot een uur bij 47 °C.
c. De kans op beschadiging van de knollen is klein en aan voor- en nabehandeling worden geringe eisen gesteld.
d. De waarde van het gewas maakt de behandeling economisch mogelijk.

4.2.2. *Onderdompeling in water en anaërobe behandeling*

Tegen stuifbrand in tarwe en gerst

Lange tijd heeft men de bestrijding van het in de embryo's overwinterende mycelium van de stuifbranden van gerst en tarwe vrijwel uitsluitend gezocht in behandelingen van het zaad bij hogere temperaturen. In de vorige paragraaf is er reeds op gewezen, dat een aantal praktische bezwaren aan de algemene toepassing van deze methoden in de weg staat. Onderzoek naar andere mogelijkheden om deze ziekten te onderdrukken was dus gewenst.

Vooral Tyner heeft in dit opzicht baanbrekend werk verricht. Hij onderzocht – bij kamertemperatuur – het effect van een groot aantal stoffen in waterige oplossing op de kiemkracht en het optreden van stuifbrand bij gerst. Goede resultaten verkreeg hij met Spergon (chloranil), door het zaad zes uur in water te weken en vervolgens 40 uur in een oplossing met 0,2% van dit fungicide te behandelen (Tyner, 1951).

Voortgezet onderzoek leidde tot de conclusie, dat de brandziekte ook door langdurige onderdompeling in zuiver water (56-64 uur bij 72-77 °F) werd onderdrukt (Tyner, 1953). Overigens had Zalessky (1935) al veel eerder op overeenkomstige wijze een zeer goede bestrijding van tarwestuifbrand verkregen, doch blijkbaar waren zijn resultaten aan de algemene aandacht ontsnapt. Heberi (1955) vond dat de waterdompeling kan worden vervangen door een anaërobe behandeling. Hij weekte gerstezaad twee tot zes uur in water en bracht het vervolgens gedurende een aantal uren in luchtdicht gesloten flessen. Het ziektebestrijdende effect was sterk afhankelijk van temperatuur en tijdsduur.

Vooral Amerikaanse en Duitse onderzoekers hebben veel aandacht besteed aan deze nieuwe methoden van stuifbrandbestrijding (voor een overzicht zie Niemann, 1957).

Voortbouwend op het werk van andere onderzoekers toonde Pichler (1956) aan, dat tijdens een warmwaterbehandeling in het zaad van tarwe en gerst in toenemende mate een anaërobe ademhaling op gaat treden, die zich na afloop van de behandeling nog enige tijd voortzet. De verbindingen die hierbij ontstaan – alcohol en aceetaldehyde – zouden de schimmel doden of in zijn ontwikkeling remmen. De resultaten van dit onderzoek maakten het

mogelijk verband te leggen tussen de bestrijding door middel van een warmwaterbehandeling en die door waterdompeling of anaërobe behandeling, welke bij lagere temperaturen plaats vinden. In 1958 toonde PICHLER aan, op grond van door NIEMANN verkregen resultaten bij de bestrijding van tarwestuifbrand, dat er een logaritmisch verband bestaat tussen de tijdsduur h van waterdompeling (c.q. anaërobe behandeling) en de temperatuur t, volgens de vergelijking

$$t = k \log h + c$$

De beide constanten k en c waren voor de waterdompelingsmethode en de anaërobe behandeling vrijwel gelijk, op grond waarvan PICHLER concludeerde, dat er geen principieel verschil bestaat tussen de beide bestrijdingswijzen. De warmwaterbehandeling blijkt dus slechts een bijzonder geval van de waterdompelingsmethode te zijn.

Een nieuwe ontwikkeling op het gebied van de stuifbrandbestrijding bij gerst is door WAGNER (1959) ingezet. Hij ontdekte, dat het zaad van dit gewas in mindere mate door oplossingen van methanol wordt beschadigd, naarmate de concentratie daarvan hoger is; zo werd in kiemproeven na vijf uur dompelen in 100% methanol nagenoeg geen opkomstvermindering geconstateerd. Zeer belangrijk was de vondst dat planten, groeiende uit op deze wijze behandeld zaad, vrij bleven van stuifbrand. De genoemde auteur heeft vervolgens bepaalde preparaten ontwikkeld die ook op grotere schaal zeer goede resultaten opleverden, doch waarvan de samenstelling blijkbaar niet voor publikatie in aanmerking komt. Zelfs een droge zaadontsmetting van gerst schijnt tot de mogelijkheden te behoren (WAGNER, 1960).

Tegen brand in gladiolen

Toen eenmaal was gevonden, dat het mycelium van *Urocystis gladiolicola* in gladioleknollen door een warmwaterbehandeling kan worden gedood, rees de vraag of bestrijding van deze ziekte ook bij lagere temperatuur kan worden bereikt.

De eerste proeven werden uitgevoerd in januari 1959 met de cultivar "A. Nobel". Door microscopisch onderzoek (S.M.) van 25 knollen was vastgesteld dat circa 32% mycelium bevatte. Een gedeelte van de gladiolen werd 4½ uur in water geweekt en vervolgens in geheel gevulde, met rubberstoppen gesloten flessen bewaard (anaërobe behandeling). Andere knollen werden ondergedompeld in vers gekookt water (waterdompelingsmethode). De proeven werden gedaan bij 20, 25½ en 30 °C, gedurende de in tabel 21 vermelde tijden. Iedere behandeling werd toegepast op 25 knollen. Zowel voor als na de behandeling werden de partijtjes bewaard bij 17 °C om ervan verzekerd te zijn, dat de S2-symptomen na het planten snel te voorschijn zouden komen en het optreden van S2U zou worden vermeden. In het voorjaar werden de aldus behandelde knollen buiten uitgeplant, waarna in de loop van het seizoen de opkomst en het aantal S2-planten werd bepaald. In het eerste gedeelte van tabel 21 zijn de waarnemingen vermeld.

Na een anaërobe behandeling gedurende 96 en 144 uur bij 30 °C en een waterdompeling gedurende 144 uur bij 30 °C werden geen planten met sori in de bladeren gevormd. De resultaten met dompelen in water bij 25½ °C zijn moeilijk verklaarbaar; waarschijnlijk is hier een vergissing in het spel geweest.

Na de oogst werden de jonge knollen microscopisch (S.M.) op de aanwezigheid van mycelium onderzocht. Alle planten, die geen S2-symptomen te

De invloed van de temperatuur tijdens de behandeling en de duur daarvan op het optreden van S2-planten in het daaropvolgende groeiseizoen.

A: Anaërobe behandeling; B: Waterdompelingsmethode (in 1961 werden 20 d.p.m. Panosan aan het water toegevoegd).

Control of smut mycelium in gladiolus corms by means of an anaerobic treatment or by soaking in water, and the effect of temperature and duration of the treatment on the incidence of S2-plants in the next season.

A: Anaerobic treatment: after soaking in water for 4½ hours the corms were stored in bottles sealed with rubber stoppers.

B: Water-soaking treatment: corms soaked in freshly boiled water (20 p.p.m. Panosan – containing an organic mercuric compound – were added to the water in 1961, to prevent bacterial growth).

Cultivar (grootte van de knollen); aantal planten per behandeling *Cultivar (corm size); number of plants per treatment*	Wijze van behandeling *Treatment*	Behandelingsduur in uren *Duration of treatment in hrs.*	Aantal S2-planten na behandeling bij *Number of S2-plants after treatment at*		
			30 °C	25½ °C	20 °C
1959					
"A. Nobel" (4–5 cm); 21–25	A	27	7	3	8
	A	48	8	6	6
	A	96	0	5	8
	A	144	0	2	5
	B	48	1	0*	6
	B	144	0	9*	9
	Onbehandeld *Control*	–	10	10	9
1960					
"Dr. Fleming" (4–5 cm); 19–22	B	72	0		
	B	120	0		
	B	192		0	
	Onbehandeld *Control*	–			10

			a	b	c	a	b	c	a	b	c
1961											
a. "Dr. Fleming" (4–5 cm); 35–41	B	48	0	0	0						
b. "Firmament" (8–12 cm); 10	B	72	0	0	0						
c. "Dr. Fleming" (3–4 cm); 19–21	B	168				0	0	0			
	B	192				0	0	0			
	B	240				0	0	0			
	B	792							–	0	0
	Onbehandeld *Control*	–							15	6	2

* Vermoedelijk een vergissing/*Probably erroneous.*

zien hadden gegeven, bleken gezonde knollen te hebben gevormd. Ook in deze proef was de brandzwam dus kennelijk door de behandeling in verscheidene objecten gedood.

In 1960 werd de waterdompelingsmethode op de bovenbeschreven wijze toegepast op knollen van de cultivar "Dr. Fleming", waarbij de behandelingsduur bij 25½ en 20 °C veel langer werd genomen. In deze proeven trad na meer dan 192 uur dompelen een troebeling op in het water tengevolge van sterke bacteriegroei; de gladioleknollen gingen tot rotting over, waardoor de opkomst na het planten sterk verminderde of geheel achterwege bleef. In het tweede gedeelte van tabel 21 zijn de resultaten samengevat. Hierin zijn uitsluitend de waarnemingen vermeld bij partijtjes, waarvan ongeveer eenzelfde aantal planten was opgekomen als in de controles.

Na een behandeling in water gedurende 72 en 120 uur bij 30 °C of 192 uur bij 25½°C werden geen aangetaste planten meer gevonden.

In 1961 werden met drie partijen van twee cultivars nogmaals waterdompelingsproeven uitgevoerd, vooral met het doel om de voor bestrijding van de schimmel benodigde behandelingsduur bij 20 en 25½°C nauwkeuriger vast te stellen. Ter vermijding van bacteriegroei werden 20 d.p.m. Panosan aan het gekookte water toegevoegd. Het bleek op deze wijze mogelijk de dompeltijden sterk te verlengen zonder nadelige gevolgen voor de gladioleknollen. Bij 20 °C trad na lange tijd toch weer een troebeling op in het water waarin de knollen werden bewaard. Van de gedurende 792 uur bij deze temperatuur behandelde knollen was de opkomst na het uitplanten in een kas bij 20 °C slechts bij twee groepen volledig. Uit het resultaat, gegeven in het derde gedeelte van tabel 21, blijkt het volgende.

Een waterdompeling van 48 en 72 uur bij 30 °C of van 168, 192 en 240 uur bij 25½°C gaf volledige bestrijding van de brandschimmel in het knolvlees. Ook in de twee groepen die 792 uur bij 20 °C onder water waren bewaard, zonder daardoor ernstig te worden beschadigd, werden geen S2-planten aangetroffen.

Samenvattend kan de conclusie worden getrokken, dat evenals bij de stuifbranden van tarwe en gerst het mycelium van de brandschimmel in gladioleknollen wordt gedood door een langdurige anaërobe behandeling of onderdompeling in water. De voor de bestrijding benodigde tijdsduur neemt waarschijnlijk snel toe naarmate de temperatuur tijdens de behandeling lager is. De beschikbare gegevens zijn te summier om na te kunnen gaan of ook bij brandziekte van gladiolen het verband tussen de beide factoren door een logaritmische functie kan worden weergegeven.

Bij gladiolen komen de zojuist behandelde bestrijdingsmethoden nauwelijks voor toepassing in de praktijk in aanmerking. In de eerste plaats omdat de warmwaterbehandeling sneller en efficiënter werken mogelijk maakt (zie ook de opmerkingen op blz. 73), terwijl in de tweede plaats de behandeling bij lagere temperaturen meer kans op beschadiging van de knollen geeft.

4.2.3. *Droge bewaring bij 34 °C*

Op grond van de in 4.2.1 (blz. 69) besproken resultaten rees het vermoeden, dat door een droge behandeling van aangetaste knollen gedurende zes weken bij 34 °C het mycelium van de brandschimmel wordt gedood.

Om dit nader te onderzoeken werd in 1960 een proef uitgevoerd met grote knollen (8-10 en 12-14 cm) van "Dr. Fleming", die voor een zeer hoog percentage mycelium en meestal ook sori van *Urocystis gladiolicola* bevatten. Op 2 maart werden alle knolschubben zorgvuldig verwijderd om in de nakomelingen het optreden van nieuwe infecties te voorkomen. Daarna werden gedurende zeven weken 100 knollen bij 34 °C en twee maal 100 bij 25½°C bewaard. Op 21 april werd een van de bij 25½°C bewaarde partijtjes een uur behandeld met warm water van 47 °C, waarna alle knollen werden ontsmet in een oplossing van een kwikhoudende organische verbinding (½ uur ⅓% Panosan) en buiten geplant.

Gewoonlijk komen knollen van de vermelde grootte volledig op. In deze proef viel van de bij 25½°C bewaarde knollen circa 25% uit, na bewaring bij 34 °C en na toepassing van een warmwaterbehandeling was dit met circa 50% het geval. Blijkbaar waren de knollen door het verwijderen van de schubben en de daaropvolgende behandeling sterk verzwakt. Desondanks kwam uit deze proef duidelijk naar voren, dat langdurige droge bewaring bij 34 °C hetzelfde effect heeft als een warmwaterbehandeling. Deze conclusie wordt nog bevestigd door de resultaten van het microscopische onderzoek (S.M.) van de jonge knollen na het rooien. Daaruit bleek, dat zowel de behandeling bij 34 °C als die in warm water de groei van het brandmycelium niet alleen had vertraagd, doch deze geheel had verhinderd.

De invloed van de behandelingsduur bij 34 °C

In de winter van 1960-1961 werd de invloed van de behandelingsduur bij 34 °C nader bestudeerd. Hiervoor werden knollen gebruikt van "Firmament" (6-8 cm; met een hoog percentage brand) en van "Dr. Fleming" (2-3 cm; met een geringe aantasting). Groepen van respectievelijk 30 en 500 knollen werden twee, vier en zes weken bij 34 °C bewaard, terwijl de controles bij 9 °C lagen opgeslagen. Na afloop van de behandeling werd een van de twee partijtjes van "Dr. Fleming" die zes weken bij 34 °C waren bewaard, gedurende 24 uur in water geweekt. Na te zijn ontsmet werden alle knollen op 28 januari in kistjes geplant en in een kas bij circa 20 °C gebracht. De bij 34 °C bewaarde knollen van "Firmament" kwamen minder snel en volledig op dan die, welke bij 9 °C waren bewaard. De cultivar "Dr. Fleming" had niet veel hinder ondervonden van de hoge temperatuur. Reeds een bewaring gedurende twee weken bij 34 °C bleek het optreden van S2-planten geheel te onderdrukken; 24 uur dompelen in water na zes weken bewaren bij de genoemde temperatuur had geen herstel van het brandmycelium gegeven.

De zojuist beschreven methode ter bestrijding van het mycelium van de brandzwam in gladioleknollen is door haar eenvoud bijzonder aantrekkelijk voor de teler. De verkregen ervaring is echter nog te gering om thans reeds te kunnen beoordelen of zij de warmwaterbehandeling zal kunnen vervangen.

Bestrijding van planteziekten door middel van een enkele weken durende, droge bewaring bij hogere temperatuur wordt weinig toegepast. Bruder (1953) vond dat plantgoed van uien, na 15 tot 30 dagen bij 35 tot 40 °C, geen *Fusarium*-aantasting te zien gaf. Stepanova (1954) bestreed *Sclerotinia sclerotiorum* in zonnebloemzaad door dit gedurende 7 tot 10 dagen te behandelen in een goed geventileerde ruimte bij 40 °C. Kassanis (1957) vermeldde 24 virussen die kunnen worden geïnactiveerd door zieke planten of knollen op een

dergelijke wijze te behandelen. Lamb (1930) vond dat *Bacterium malvacearum* in katoenzaad wordt gedood door dit gedurende twee weken dagelijks aan de zonnestraling bloot te stellen; de temperatuur van het zaad liep in zijn proeven soms op tot 60 °C. Bij het z.g. "heetstoken" van hyacinten (twee maanden bij 30 °C, daarna zes weken bij 37 tot 37,5 °C) tegen *Xanthomonas hyacinthi* ontwikkelt de ziekte zich in matig tot zwaar aangetaste exemplaren zo sterk dat ze gemakkelijk kunnen worden herkend en verwijderd; in zeer licht aangetaste bollen wordt de bacterie geïnactiveerd (Dolk & van Slogteren, 1930).

Teneinde na te gaan of ook stuifbrand van tarwe op deze wijze kan worden bestreden, werd in een oriënterende proef geïnfecteerd zaad van drie tarwerassen gedurende 2, 4 en 6 weken bij 34 °C bewaard. Planten groeiende uit aldus behandeld zaad vormden echter niet minder brandaren dan die in de controles.

4.3. MAATREGELEN TER VOORKOMING VAN S1 EN S2 IN EEN EN DEZELFDE PARTIJ

4.3.1. *Het optreden van nieuwe infecties na warmwaterbehandeling*

Onder 4.2.1 (blz. 66 e.v.) werd vermeld, dat nakomelingen van met warm water behandelde knollen soms toch weer mycelium bevatten. In de thans te bespreken proef was dit in sterke mate het geval.

In 1958 stonden knollen van "Firmament" (12-14 cm) ter beschikking, die alle geheel met mycelium waren doorwoekerd en in sterke mate sori in de schubben te zien gaven. Op 3 maart werden deze behandeld volgens de aanwijzingen in tabel 22 en direct daarna uitgeplant in een onverwarmde kas.

Alle planten in de controle vertoonden al snel na opkomst S2-verschijnselen; ze werden op 22 mei verwijderd. In de bovengrondse delen van de resterende planten werden gedurende het gehele groeiseizoen geen afwijkingen waargenomen. Op 23 september, toen de proef werd beëindigd, bleken echter veel sori in de ondergrondse delen voor te komen; bij het microscopische onderzoek (S.M.) van de geoogste knollen werd in een groot deel hiervan mycelium aangetoond (zie tabel 22).

Ter verklaring van de aanwezigheid van brandmycelium in de nakomelingen van knollen die met warm water zijn behandeld staan twee wegen open. Enerzijds bestaat de kans dat de schimmel door de behandeling niet wordt gedood, doch slechts tijdelijk geïnactiveerd. Laat in het seizoen zou hij zich dan herstellen en alsnog in de jonge weefsels binnendringen. De waargenomen verschijnselen zouden dan tot S2U moeten worden gerekend. Onder 4.2.1 (blz. 67) is reeds besproken dat deze mogelijkheid mag worden uitgesloten.

Anderzijds kan het verschijnsel worden verklaard door aan te nemen, dat de brandsporen, die zich aan en in de schubben bevinden, de warmwaterbehandeling overleven en vervolgens in het seizoen na de behandeling nieuwe infecties tot stand kunnen brengen; de waardplant wordt daardoor weer in S1 gebracht.

Het besproken verschijnsel trad vooral op bij plantmateriaal met sori in de schubben en kon bovendien – zoals hierna zal blijken – volledig worden on-

TABEL 22. Brandaantasting van gladioleplanten, gegroeid uit met warm water behandelde knollen met sori in de schubben. Per behandeling 10 knollen.
Smut infection of gladiolus plants grown from hot-water treated corms with sori in the scales. Cultivar 'Firmament', 10 corms of 12–14 cm per treatment.

Warmwaterbehandeling *Hot-water treatment*	Totaal aantal planten *Total number of plants*	Aantal S2-planten *Number of S2-plants*	Na het rooien / *After lifting*				
			Aantal planten met sori in ondergr. delen *Number of plants with sori in underground parts*	Totaal aantal knollen *Total number of corms*	Aantal met sori in knolvlees *Number with sori in corm flesh*	microsc. onderzoek (S.M.) *microsc. examination (S.M.)*	
						Aantal knollen met mycelium *Number of corms with mycelium*	Aantal knollen zonder mycelium *Number of corms without mycel.*
30 min. 46 °C	9	0	5	22	10	15	7
60 min. 46 °C	10	0	4	19	6	12	7
30 min. 47 °C	8	0	3	15	4	7	8
60 min. 47 °C	10	0	7	16	4	8	8
60 min. 48 °C	7	0	1	10	3	5	5
60 min. 47 °C in Ar.[1]	10	0	2	15	1	5	10
Totaal na W.B. *Total after H.T.*	54	0	22	97	28	52	45
Onbehandeld *Control*	10	10	–	0	–	–	–

[1] Warmwaterbehandeling (W.B.) in ¼% Aretan.
Hot-water treatment (H.T.) in ¼% Aretan.

derdrukt door verwijdering van alle schubben gevolgd door ontsmetting voor het planten. Hieruit mag worden geconcludeerd dat de tweede verklaring inderdaad de juiste is. Het verdere onderzoek diende dus gericht te zijn op bestrijding van sporen zowel als mycelium in een en dezelfde partij.

Bij knollen lag het voor de hand te zoeken naar een combinatie van de warmwaterbehandeling bij 47 °C met een uitwendige ontsmetting door middel van een oplossing van een kwikbevattende verbinding. Toevoeging van een dergelijk fungicide aan het warme water waarin de knollen worden gedompeld – zoals bij andere bol- en knolgewassen gebruikelijk is om verspreiding van levende *Fusarium*-sporen te voorkomen – brengt alleen dan geen risico mee als de behandeling kort voor de planttijd geschiedt. Wanneer de knollen echter nog enkele maanden moeten worden bewaard, kan de genoemde toevoeging aanleiding geven tot oppervlakkige beschadiging van het knolvlees. Er wordt daarom de voorkeur aan gegeven om de warmwaterbehandeling en de ontsmetting gescheiden toe te passen; deze laatste is ook bij gladiolen met het oog op andere ziekten beslist noodzakelijk.

Wanneer aan bepaalde voorwaarden wordt voldaan kunnen kralen veel hogere temperaturen verdragen dan knollen. De mogelijkheden, die hierin liggen opgesloten, worden onder 4.3.2 besproken.

Bestrijding van sporen die de warmwaterbehandeling hebben overleefd

De onder 4.1.2 (blz. 65) besproken ontsmettingsproeven wezen uit, dat ontsmetting met kwikhoudende oplossingen vlak voor het planten – thans alge-

meen in de praktijk toegepast ter bestrijding van andere gladioleziekten (SCHENK, 1956) – ook aanhangende sporen van brand volledig doodt. Wanneer de sporen in dichte massa's zitten opgesloten in de sori van de schubben, is het echter moeilijker ze alle met een ontsmettingsmiddel te bereiken.

In een oriënterend proefje in 1959 werden met warm water behandelde knollen met sori in de schubben vóór de eigenlijke ontsmetting gedurende 16 uur in water geweekt, in de hoop dat daardoor het kwikbevattende middel beter door zou kunnen dringen. Het aantal nieuwe infecties werd daardoor echter niet verlaagd.

In 1960 stonden zeer zwaar aangetaste knollen van "Dr. Fleming" (10-12 cm) ter beschikking. Bij alle exemplaren kwamen dikwijls grote sori in de schubben voor, bovendien bevatte ongeveer 90% merendeels goed ontwikkelde sori in het knolvlees. Enerzijds werd dit materiaal gebruikt om na te gaan in hoeverre ook de sporen in het knolvlees gevaar opleveren voor nieuwe infecties. In deze serie werden alle schubben voor de warmwaterbehandeling zorgvuldig afgepeld; enkele knollen met sori in de blaadjes van de jonge knop werden verwijderd. Anderzijds werd aan de resterende, niet kaal gemaakte knollen onderzocht of een langdurige ontsmetting voor het planten met een

TABEL 23. Het optreden van nieuwe brandinfecties (S1) na warmwaterbehandeling van gladioleknollen met sori in de schubben en het knolvlees en de invloed van een ontsmetting voor het planten. Som van twee herhalingen, 2 maal 50 knollen per behandeling.
New smut infections (S1) after hot-water treatment of gladiolus corms with sori in the scales and the corm flesh, and its control by a pre-planting disinfection. Cultivar: 'Dr. Fleming' (10-12 cm), all corms with sori in the scales and about 90% also with sori in the flesh; sum of two replicates, twice 50 corms per treatment.
Panosan: methylmercury dicyaandiamide (1,2% Hg).

Warmwaterbehandeling op 2 maart *Hot-water treatment on 2nd March*	Ontsmetting voor het planten op 21 april *Pre-planting disinfection on 21st April*	Totaal aantal planten *Total number of plants*	Aantal S2-planten *Number of S2-plants*	Microsc. onderzoek (S.M.) na het rooien van knollen > 8 cm *Microsc. examination (S.M.) after lifting of corms > 8 cm*	
				aantal *number*	aantal met mycelium *number with mycelium*
Knollen met schubben *Corms with scales*					
60 min. 47 °C	–	87	0	128	19
60 min. 47 °C	Panosan 0,3%, ½ u./*hour*	95	0	146	5
60 min. 47 °C	Panosan 0,1%, 24 u./*hours*	96	0	141	3
Onbehandeld/*Control*	–	96	96	0	–
Knollen zonder schubben *Corms without scales*					
60 min. 47 °C	–	61	0	56	1
60 min. 47 °C	Panosan 0,3%, ½ u./*hour*	76	0	78	0
60 min. 47 °C	Panosan 0,1%, 24 u./*hours*	80	0	82	0
Onbehandeld/*Control*	–	92	86	0	–

lage concentratie van de kwikverbinding een betere bestrijding van nieuwe infecties door sporen in schubsori zou kunnen geven dan de standaardontsmetting (in dit geval met Panosan $^1/_3$%, $^1/_2$ uur).

De warmwaterbehandeling vond plaats op 2 maart 1960 en de ontsmetting vlak voor het planten op 21 april. Nadere gegevens over de opzet van de proef zijn vermeld in de toelichting bij tabel 23.

Te velde werden uitsluitend in de niet met warm water behandelde partijen S2-planten waargenomen. Uit het resultaat van het microscopische onderzoek (S.M.) na het rooien in de groep zonder schubben blijkt, dat de sori in het knolvlees, die niet door het fungicide konden worden bereikt en dus levende sporen bevatten, geen nieuwe infecties hadden doen ontstaan. Uitsluitend wanneer de knolschubben niet waren verwijderd werd in een aantal gevallen mycelium in de geoogste knollen waargenomen. De toegepaste ontsmettingen hadden dit tot een minimum beperkt, waarbij tussen de standaardbehandeling en de langdurige dompeling geen betrouwbare verschillen bestonden.

De critische waarnemer, die mocht opmerken dat volledige bestrijding dus blijkbaar onbereikbaar is, dient het volgende te overwegen. In de praktijk is nog nooit een zo hevig aangetaste partij waargenomen, als voor deze proeven werd gebruikt. In de regel bedraagt het percentage zieke planten te velde minder dan een procent. Door de Bloembollenkeuringsdienst werd in de afgelopen jaren slechts eenmaal tijdens de bewaring een partij grootbloemige gladiolen gevonden waarin schubsori voorkwamen.

Het is dan ook duidelijk, dat na toepassing van een warmwaterbehandeling, gevolgd door de normale ontsmetting voor het planten, met het optreden van brand geen rekening meer behoeft te worden gehouden.

4.3.2. MAATREGELEN TER VOORKOMING VAN S1 EN S2 BIJ KRALEN

In Florida en Californië heeft men het afgelopen decennium een methode van warmwaterbehandeling ontwikkeld, waardoor gladiolekralen bijna volledig van parasitaire schimmels kunnen worden bevrijd (BALD, 1956; ROISTACHER et al., 1957). Tijdens het onderzoek over de brandziekte werden de mogelijkheden onderzocht die deze bestrijdingswijze onder Nederlandse omstandigheden bood. Hierbij bleek, dat de in Amerika toegepaste behandeling gedurende een half uur bij 135 °F (circa 57 °C) in ons land meestal tot ernstige beschadiging van de kralen leidt, zodat deze hier niet in aanmerking komt om op grote schaal te worden toegepast. Daar echter door een half uur dompelen bij 53 °C reeds vrijwel volledige bestrijding van *Septoria gladioli* en *Stromatinia gladioli* wordt bereikt, terwijl *Fusarium oxysporum* f. *gladioli* beter wordt bestreden dan door de tot nu toe geadviseerde ontsmetting met kwikhoudende middelen voor het planten, liggen hier toch goede mogelijkheden voor de Nederlandse gladiolecultuur (SCHENK, 1959, 1960 a, 1960 b, 1961).

De eigenlijke behandeling vindt plaats in januari; de kralen worden dan twee dagen geweekt, vervolgens een half uur in water van 53 °C (eventueel 55 °C) gebracht, daarna snel afgekoeld in koud water, gedroogd en tot de planttijd koel bewaard.

Nadat gebleken was, dat de brandsporen een behandeling bij 47 °C kunnen overleven, was het gewenst, met het oog op de bovengenoemde bestrijdingsmethode een onderzoek in te stellen naar de thermoresistentie van deze orga-

TABEL 24. Thermoresistentie van droge en in water geweekte brandsporen. Het effect van de behandeling bij hoge temperatuur werd nagegaan door gladiolekralen voor het uitzaaien in vacuüm te inoculeren met behandelde sporen, waarna in het daaropvolgende groeiseizoen het al of niet optreden van infectie werd vastgesteld.
Heat resistance of dry and water-soaked smut spores. The effect of the treatment at high temperatures was studied by vacuum-inoculation of gladioluscormels ('Dr. Fleming') with treated spores (500 per mm³) and the incidence of infections in the next season.

Behandeling van de sporen *Treatment of the spores*	Sporen droog / *Spores dry*			Sporen in water (na 24 uur weken) *Spores in water (after soaking for 24 hours)*		
	Totaal aantal planten *Total number of plants*	% met sori in ondergr. delen *% with sori in underground parts*	Microsc. onderz. van 100 knollen (S.M.) *Microsc. examination of 100 corms (S.M.)*	Totaal aantal planten *Total number of plants*	% met sori in ondergr. delen *% with sori in underground parts*	Microsc. onderz. van 100 knollen (S.M.) *Microsc. examination of 100 corms (S.M.)*
Onbehand./*Control*	93	62		137	81	
30 min. 47 °C	120	73		146	73	
60 min. 47 °C	126	72		119	71	
30 min. 50 °C	117	95		148	41	
30 min. 53 C	142	80		148	0	0
30 min. 55 °C	129	83		133	0	0
30 min. 57 C	158	79		124	0	
30 min. 60 °C	139	71		122	0	
30 min. 70 °C	153	1		114	0	
30 min. 80 °C	128	2	0	117	0	
30 min. 90 °C	119	0	0	103	0	

nen. In een in 1958 op kleine schaal genomen oriënterende proef bleken zowel droge als voorgeweekte sporen een behandeling gedurende een half en een uur bij 51 °C te kunnen overleven.

In 1959 werden sporen gedurende verschillende tijden bij hoge temperaturen behandeld in dunwandige glazen buisjes, gedeeltelijk na 24 uur voorweken in water, gedeeltelijk droog. De inhoud van de buisjes werd na afloop gesuspendeerd in 1% methylcellulose, zodanig dat een concentratie van 500 sporen/mm³ werd verkregen. Kralen van "Dr. Fleming" werden hiermee in vacuüm geïnoculeerd en buiten uitgezaaid. Dank zij de voor brandinfectie zeer gunstige omstandigheden in de zomer van 1959 werden bij het rooien in veel partijtjes zeer opvallende S1-symptomen op de ondergrondse delen gevonden. De macroscopische beoordeling gaf in dit geval voldoende gegevens. Uitsluitend van de behandelingen bij de twee laagste temperaturen, waar geen of nauwelijks infectie meer werd gevonden, werden ook 100 knollen microscopisch (S.M.) onderzocht.

Uit het in tabel 24 samengevatte resultaat blijkt, dat droge sporen de behandeling gedurende een half uur bij 60 °C gemakkelijk hadden overleefd en dat ze bij 70 en 80 °C nog niet alle waren gedood. Dat voorgeweekte sporen de behandeling gedurende een half uur bij 53 °C al niet meer bleken te kunnen verdragen, was een prettige verrassing die de natuur had weggelegd. Verwacht mocht worden dat de tegen andere ziekten ontwikkelde methode van warmwaterbehandeling van de kralen zonder meer ook op brand van gladiolen toegepast zou kunnen worden.

Warmwaterbehandeling van kralen bij 53 en 55 °C

Gelijktijdig met de hiervoor beschreven proef werden "Dr. Fleming"-kralen – afkomstig van besmet terrein en met dikwijls grote sori in de schubben – gebruikt om de mogelijkheid van een gecombineerde bestrijding van brandsporen en -mycelium door middel van een warmwaterbehandeling bij 53 en 55 °C te onderzoeken. De gegevens over de opzet van de proef zijn vermeld in de

Tabel 25. Warmwaterbehandeling van gladiolekralen ter voorkoming van S2 en tegelijkertijd van nieuwe infecties door in het plantmateriaal aanwezige brandsporen. De kralen werden voor de behandeling op 12 januari 1959 twee dagen in water gekweekt. Gemiddelden van vier herhalingen, 4 maal 50 gram kralen per behandeling.
Hot-water treatment of gladiolus cormels to control both S2 and new infections by smut spores present in the plant material. The cormels, many of them with sori in the scales, were soaked in water for 48 hours prior to hot-water treatment on 12th January, 1959. Cultivar 'Dr. Fleming', means of four replicates, each of 50 gm cormels.

Warmwaterbehandeling *Hot-water treatment*	Totaal aantal planten *Total number of plants*	% S2-planten *% S2-plants*	Microscopisch onderzoek (S.M.) na het rooien (4 × 50 knollen): % met mycelium *Microsc. examination (S.M.) after lifting (4 × 50 corms): % with mycelium*	Tweede groeiseizoen (4 herhalingen tezamen) *Second growing season (4 replicates together)*	
				Totaal aantal planten *Total number of plants*	% S2-planten *% S2-plants*
30 min. 53 °C	197	0	0,5	204	0
30 min. 55 °C	175	0	0,5	231	0,4
120 min 48 °C	183	0	–	329	4,3
Onbeh. *Control*	149	10,8	9,5	260	7,0

toelichting bij tabel 25. In de zomer van 1959 werden de aanwezige S2-planten verwijderd en na het rooien op 30 oktober werden van enkele behandelingen 4 × 50 knollen met behulp van de S.M. op aanwezigheid van mycelium onderzocht. In 1960 werd een deel van de knollen weer opgeplant om te velde het percentage S2-planten vast te kunnen stellen. De uitkomsten van deze proef bewijzen, dat zowel het mycelium als het merendeel der sporen door de warmwaterbehandeling bij 53 en 55 °C waren gedood. Een behandeling gedurende twee uur bij 48 °C werd gevolgd door talrijke nieuwe infecties.

Wanneer de warmwaterbehandeling bij 53 °C om de een of andere reden niet toegepast kan worden, zal men terug moeten vallen op de behandeling zoals die ook voor de knollen wordt geadviseerd. Het is in dat geval echter gewenst om een langdurige ontsmetting toe te passen, daar sori in de dikke schubben van kralen nog moeilijker getroffen worden dan bij knollen het geval is. In een hier niet nader te beschrijven proef werd het optreden van nieuwe infecties vrijwel geheel voorkomen door gedurende twee uur in warm water van 48 °C behandelde kralen voor het planten tien uur te dompelen in een oplossing van een van de gebruikelijke kwikbevattende fungiciden.

4.4. BESTRIJDING BIJ VROEGBLOEIENDE GLADIOLEN

In de winter van 1957-1958 stonden knollen van de vroegbloeiende cultivar "Peach Blossom" ter beschikking, waarvan bij microscopisch onderzoek (S.M.) van 100 knollen was gebleken, dat circa 15% mycelium van de brandschimmel bevatte. In de meeste aangetaste exemplaren kwamen tevens sori in het knolvlees voor. Vlak voor het planten op 21 december werden ze behandeld volgens de in de toelichting bij tabel 26 verstrekte gegevens.

Uit de in 1958 gegeven standcijfers blijkt, dat de warmwaterbehandeling in alle gevallen ernstige schade had veroorzaakt. Ontsmetting in 1/4% Aretan direct na de dompeling in warm water verminderde de ongewenste gevolgen in sterke mate, doch maakte deze niet ongedaan (vergelijk 1 uur 47 C in de series 1 en 2). De oogstcijfers laten zien, dat het totale aantal gerooide knollen in enkele gevallen zelfs hoger was dan in onbehandelde objecten; ze waren echter slecht gegroeid en klein van stuk. In de zomer van 1958 werden na warmwaterbehandeling geen S2-planten gevonden; hier mogen echter geen conclusies aan worden verbonden, daar waarschijnlijk in de eerste plaats de door brand geïnfecteerde en verzwakte knollen, waarvan het grootste deel sori in het vlees bevatte, door de behandeling zullen zijn gedood.

In december 1958 werden alle partijtjes gedurende een half uur ontsmet in 1/3% Panosan en opnieuw uitgeplant, waarna in de zomer van 1959 het percentage S2-planten werd vastgesteld. Toen bleek het effect van de in december 1957 gegeven behandeling. De nakomelingen van knollen die destijds met formaline of met Aretan waren ontsmet vertoonden vrijwel geen planten met sori in de bladeren. De controlegroepen onbehandeld-Aretan en formaline-onbehandeld waren zelfs geheel vrij van brand. In 1959 was in serie 2, waar in december 1957 geen ontsmetting was toegepast, 2,9 tot 4,8% van het aantal planten bovengronds zichtbaar aangetast.

Ongeveer 2000 knollen van serie 2 werden nog een jaar nageteeld, om na te kunnen gaan of ook de in december 1958 gegeven ontsmetting het optreden

TABEL 26. De invloed van warmwaterbehandeling en ontsmetting vlak voor het planten op de groei van het gewas en de aantasting door brand bij de vroegbloeiende cultivar "Peach Blossom". Bij microscopisch onderzoek (S.M.) van 100 knollen in de winter van 1957 bleken 15 mycelium te bevatten, waaronder 13 met dikwijls grote sori in het knolvlees. Gemiddelden van twee herhalingen, 2 × 150 knollen per behandeling in 1957.

The effect of hot-water treatment and disinfection just before planting on 21st December, 1957, on growth and attack by the smut fungus in the early flowering cultivar 'Peach Blossom'. Microscopical examination (S.M.) of 100 corms in the winter of 1957 revealed 15 with mycelium, including 13 with sori in the flesh. Means of two replicates, twice 150 corms per treatment in 1957.

Serie *Series*	Behandeling in winter 1957–1958 *Treatment in winter 1957–1958*	Zomer 1958 / *Summer 1958*			Aantal knollen geplant (winter 1958 1959) *Number of corms planted (winter 1958-1959)*	Zomer 1959 % S2-planten *Summer 1959* % *S2-plants*
		Gemiddeld standcijfer op 17 juli [1] *Mean crop-rating on 17th July*	% S2-planten % *S2-plants*	Totaal aantal knollen gerooid *Total number of corms lifted*		
1	30 min. 47 °C–Aretan [2]	8	0	568	508	0,8
	60 min. 47 °C–Aretan	6,5	0	344	306	0
	90 min. 47 °C–Aretan	3	0	135	105	0,5
	Controle–Aretan *Control–Aretan*	10	5,7	414	208	0
2	60 min. 45 °C	9	0	384	241	2,9
	60 min. 46 °C	5	0	238	158	3,2
	60 min. 47 °C	1	0	13	0	–
	Onbehandeld/*Control*	10	5,7	330	168	4,8
3	Formaline [3]–30 min. 47 °C	5	0	221	180	0,6
	Formaline–60 min. 47 °C	0,5	0	0	0	–
	Formaline–90 min. 47 °C	0	0	0	0	–
	Formaline–controle *Formalin–control*	10	7,0	357	272	0

[1] Stand gewaardeerd volgens een index van 1 (slechts enkele planten per veldje, zeer vertraagde opkomst) tot en met 10 (normale, snelle opkomst, vol gewas).
Crop-rating by an arbitrary index from 1 (only a few plants, delayed sprouting) to 10 (full crop, normal sprouting).

[2] Na de warmwaterbehandeling een half uur ontsmet in ¼ % Aretan.
Dipped in ¼ % Aretan for half an hour after hot-water treatment.

[3] Voor de warmwaterbehandeling 10 uur ontsmet in ½ % handelsformaline.
Dipped in ½ % formalin for 10 hours before hot-water treatment.

van S2-planten in het tweede seizoen na de behandeling zou onderdrukken. In de zomer van 1960 werden slechts twee planten met sori in de bladeren waargenomen.

Wanneer dus de knollen van vroegbloeiende gladiolen voor het planten worden ontsmet met een kwikhoudende vloeistof en in het daaropvolgende groeiseizoen zorgvuldig alle planten met sori in een of meer van de spruiten geheel worden verwijderd (en niet uitsluitend de aangetaste spruiten, daar anders knollen in S2U achter kunnen blijven), zal de oogst van dit gewas nagenoeg vrij van brand zijn. Het is interessant op te merken, hoe licht de argeloze gladioleteler wordt misleid. In het seizoen volgende op de behandeling ziet hij immers geen enkel resultaat, daar in ontsmette partijen het optreden van S2 niet wordt onderdrukt. Als hij dan het volgende jaar, door ervaring "wijs" geworden, de ontsmetting maar achterwege laat, is de ziekte plotseling verdwenen. Zijn conclusie ligt dan voor de hand.

Verder onderzoek wees uit, dat de nadelige gevolgen van een warmwaterbehandeling bij de vroegbloeiende gladiolen sterk konden worden beperkt door de knollen na het rooien bij 20 °C te bewaren en de behandeling toe te passen in de eerste maanden na de oogst. Toevoeging van kwikhoudende middelen aan het warmwaterbad leidde tot duidelijke stagnatie van de groei, zodat de ontsmetting evenals bij de grootbloemige gladiolen uitgesteld moest worden tot vlak voor het planten. Ook wanneer al deze voorzorgen in acht werden genomen was de groei echter dikwijls minder gunstig, vooral doordat meer knoppen uitliepen dan normaal waardoor meer doch slecht gegroeide knollen werden geoogst.

In een proef op kleine schaal werden op deze wijze analoge resultaten verkregen als bij grootbloemige gladiolen. Knollen van "Peach Blossom" en "Spitfire", met sori in knolschubben en -vlees, werden na bewaring bij 20 °C op 24 november 1958 gedurende een half uur bij 46 °C behandeld.

In deze proef werd het optreden van S2 door de behandeling onderdrukt. Nieuwe infecties traden uitsluitend op als een warmwaterbehandeling was toegepast; in tegenstelling tot de in tabel 23 (blz. 80) vermelde resultaten bij grootbloemige gladiolen, was dit ook het geval als de schubben voor de behandeling zorgvuldig waren verwijderd en de partijtjes voor het planten werden ontsmet. Blijkbaar waren de niet door de ontsmetting gedode sporen in het knolvlees er in deze proef wel in geslaagd om soms infectie teweeg te brengen. In deze groep gladiolen ontstaan dikwijls grote sori vlak onder de epidermis van de knollen. Als deze openbreken doordat het bedekkende weefsel verteert of de moederknol wordt samengedrukt tussen de zich ontwikkelende dochterknollen, zal gemakkelijk infectie tot stand kunnen komen. Juist na toepassing van een warmwaterbehandeling kan dit een reëel gevaar gaan vormen, daar dan het optreden van S2-spruiten uit knollen met sori geheel of gedeeltelijk wordt voorkomen. De jonge knollen worden echter, ondanks de ontsmetting, opnieuw geïnfecteerd. De gecombineerde behandeling leidt dus slechts tot uitstel van executie van een jaar.

Een volgend bezwaar tegen de warmwaterbehandeling in deze groep gladiolen is echter, dat zij dikwijls het optreden van S2 onvoldoende bleek te onderdrukken. Een van de proeven, waarin dit werd waargenomen, wordt hier nader besproken.

In september 1959 werden partijen van verschillende cultivars, waarin tij-

dens de voorafgaande groeiperiode brand was geconstateerd, in drie groepen verdeeld. Deze werden behandeld volgens de gegevens in tabel 27. In de zomer van 1960 werden de S2-planten verwijderd. Het percentage aangetaste exemplaren bleek hier, evenals in de in tabel 26 beschreven proef, veel lager te liggen dan op grond van het microscopische onderzoek voor het planten mocht worden verwacht. Blijkbaar waren veel door brand aangetaste knollen zodanig verzwakt dat ze niet meer uitliepen. Het percentage S2-planten was in de thans besproken proef in ontsmette, niet met warm water behandelde objecten, ongeveer het dubbele van dat in onbehandelde groepen; vermoedelijk speelden andere parasitaire organismen ook een rol bij het geheel wegvallen van brandzieke knollen.

Na warmwaterbehandeling werden toch nog vrij veel S2-planten gevonden. Bij het onderzoek van deze exemplaren werden bijna altijd sori gevonden in het weefsel van de moederknol, grenzend aan de plaats waar de S2-spruit was ingeplant. Het lijkt daarom waarschijnlijk, dat het mycelium plaatselijk de behandeling heeft overleefd, misschien doordat de droge sporenmassa isolerend werkte, zodat de temperatuur onvoldoende kon doordringen of doordat het knolweefsel met mycelium in de nabijheid van de sori te sterk was uitgedroogd.

Samenvattend blijkt dus, dat toepassing van warmwaterbehandeling bij vroegbloeiende gladiolen de volgende bezwaren heeft:

a. Het optreden van S2 wordt dikwijls onvoldoende onderdrukt.

b. In veel gevallen treedt beschadiging op.

c. Na toepassing van een warmwaterbehandeling is de kans op nieuwe infecties veel groter dan bij grootbloemige gladiolen, waarschijnlijk doordat deze ook door de sporen in oppervlakkig in het knolvlees gelegen sori veroorzaakt kunnen worden.

De bestrijding vindt in dit geval het beste plaats door ontsmetting vlak voor het planten met een oplossing van kwikbevattende organische fungiciden, gecombineerd met zorgvuldige verwijdering van alle geheel of gedeeltelijk aangetaste planten in het daaropvolgende groeiseizoen.

TABEL 27. Het effect van warmwaterbehandeling enkele weken na het rooien en ontsmetting vlak voor het planten op de brandaantasting in verschillende partijen knollen van vroegbloeiende cultivars.
The effect of hot-water treatment some weeks after lifting, and of disinfection just before planting on the development of the smut disease in different stocks of corms of early flowering gladiolus cultivars.

Partij en aantal knollen per behandeling *Stock and number of corms per treatment*	Voor het planten, % met mycelium [1] *Before planting, % with mycelium* [1]	Warmwaterbehandeling [2] *Hot-water treatment* [2]	Ontsmetting vlak voor het planten [3] *Disinfection just before planting* [3]	S2-planten, in % van aantal geplante knollen *S2-plants in % of corms planted*	Microscopisch onderzoek (S.M.) na het rooien *Microscop. examination (S.M.) after lifting*	
					Aantal knollen *Number of corms*	% met mycelium *% with mycelium*
"Nymph" (7–8 cm)	0	–	–	0,4		
750		–	+	0,3		
		+	+	0		
"Nymph" (6–7 cm)	7	–	–	0,2	100	0
3595		–	+	0,6		
		+	+	0,1		
"Nymph"	3	–	–	1,3	100	0
(> 5 cm)		–	+	1,8		
625		+	+	0,3		
"Peach Blossom"	7			1,3	200	4
(> 5 cm)		–	+	1,8	300	0
605		+	+	0,2	100	0
"Peach Blossom"	0	–	–	0,1	100	3
(< 5 cm)		–	+	0,3	300	0
1050		+	+	0	100	0
"Succes"	0	–	–	0,4	100	3
(> 5 cm)		–	+	1,2	300	0
1155		+	+	0,3	100	0
Gewogen gemiddelde van alle partijen	3,9			0,41		
Weighted mean of all stocks		–	+	0,81		
		+	+	0,14		

[1] Van iedere partij 30 knollen microscopisch (S.M.) onderzocht/*30 corms of each stock examined microscopically (S.M.).*
[2] +: warmwaterbehandeling toegepast gedurende 45 min. bij 47 tot 47,5 C op 4 september 1959.
+: hot-water treatment for 45 min. at 47 to 47.5 C on 4th September, 1959.

SAMENVATTING

In deel 1 wordt de aanleiding tot het onderzoek naar biologie en bestrijding van *Urocystis gladiolicola* Ainsw. op gladiolen besproken en een kort overzicht gegeven van de geschiedenis van de ziekte en van de identiteit en nomenclatuur van de parasiet; enkele opmerkingen over de teelt van gladiolen dienen tot een beter begrip van het daaropvolgende betoog.

De symptomen, die in de onderscheidene stadia van de ziekte optreden, zijn in deel 2 uitvoerig beschreven. De met brandsporen gevulde sori van de schimmel kunnen voorkomen in de blad- en stengeldelen van de gladiool. Eerst wanneer de bladeren bovengronds zichtbaar worden aangetast, wordt de groei van de waardplant in meer of minder ernstige mate belemmerd. Zowel bij grootbloemige als vroegbloeiende gladiolen leidt infectie door brand dikwijls tot breking van de rust van slapende of pas gevormde knoppen; soms ontstaan tengevolge daarvan opvallende misvormingen en sporadisch ook heksenbezemachtige verschijnselen. Verschillende malen is waargenomen, dat brandzieke gladioleplanten of -knollen tegelijkertijd door andere parasieten van dit gewas kunnen worden aangetast.

Deel 3 behandelt de resultaten van het onderzoek naar de biologie van de brandzwam van gladiolen.

In 3.1 wordt eerst de methode (standaardmethode, S.M.), die het mogelijk maakte latent in de ondergrondse weefsels van de waardplant aanwezig mycelium van de parasiet microscopisch aan te tonen, uitvoerig beschreven. De uitbreiding van de schimmel in het knolweefsel werd beoordeeld aan de hand van een indeling in vier aantastingstypen (zie fig. 4); de mate van aantasting van een zieke knol werd vastgelegd in een aantastingscijfer, dat correspondeerde met het nummer van het betreffende aantastingstype.

Het verloop van de ziekte, zoals dat op grond van de proeven kon worden bepaald, is schematisch in fig. 6 weergegeven. Brandsporen tussen of in de knolschubben van het plantmateriaal of in de grond, waar gladiolen worden geteeld, kunnen in de loop van het groeiseizoen aanleiding geven tot infectie. Onder de klimatologische omstandigheden in ons land slaagt de parasiet er zelden in reeds in het eerste jaar tot in de bovengrondse bladachtige delen door te dringen. Uitsluitend bij planten groeiende uit kralen kunnen soms in de loop van augustus of september sori in de bladeren worden waargenomen. Bij het rooien worden dikwijls sori aangetroffen in de stolonen, kralen en knolschubben en soms ook in het knolvlees. Als dit laatste niet het geval is, is het mycelium van de brandschimmel toch vaak in de knollen aanwezig; het vlees van knollen met sori in de schubben is daarentegen soms vrij van de parasiet. De mate van aantasting direct na de oogst is onder natuurlijke omstandigheden bij de nakomelingen van grote knollen gewoonlijk van het type 1 of 2, bij die van kralen varieert dit van 1 tot 4. Het hiervoor beschreven gedeelte van het ziekteverloop wordt aangeduid met het symbool S1 (*eerstejaarsstadium*).

Het daarop volgende stadium, S1B, omvat de ontwikkeling tijdens de bewaring van de droge knollen. De schimmel blijkt dan, afhankelijk van de bewaartemperatuur, langzaam verder in het knolvlees door te kunnen dringen.

Als de parasiet bij het planten reeds in de jonge knoppen op de top van de knol aanwezig is, geven de spruiten na opkomst spoedig symptomen in de bla-

deren te zien; ze sterven in de loop van een aantal weken af en rotten weg, waarbij de sporen vrij komen. Naarmate het mycelium in de knollen bij het planten een grotere afstand af moeten leggen alvorens het vegetatiepunt te bereiken, treden de symptomen in de bovengrondse delen later in het seizoen op en wordt de groei van de waardplant minder door de ziekte beïnvloed. Soms worden zelfs uitsluitend in de bloeiwijze sori gevormd. Wanneer de aantasting in het tweede groeiseizoen in de bovengrondse delen zichtbaar tot uiting komt, wordt gesproken van S2 (*tweedejaarsstadium*).

Ook komt het voor, dat bij planten uit zieke knollen van het type 1 of 2 in het geheel geen symptomen in de bladeren te voorschijn treden. Bij microscopisch onderzoek na het rooien blijkt de schimmel dan dikwijls tot in de jonge knollen te zijn doorgedrongen; soms zijn in de ondergrondse delen sori gevormd, op dezelfde wijze als dit aan het einde van S1 het geval kan zijn. Wanneer de ziekte op deze wijze verloopt, wordt gesproken van S2U (*uitgesteld tweedejaarsstadium*).

Tenslotte is de mogelijkheid aanwezig, dat het mycelium in zieke knollen er niet in slaagt voor het einde van het groeiseizoen de jonge delen van de waardplant te bereiken. De jonge knollen ontsnappen dan aan de aantasting.

Bij de vroegbloeiende cultivars lopen gewoonlijk twee tot vijf knoppen van de moederknol uit, waaronder ook basaal ingeplante. De kans dat een knol met mycelium alleen spruiten zonder sori vormt, mag vrijwel worden uitgesloten. De plant als geheel valt dan altijd in S2. Wanneer echter uitsluitend wordt gelet op individuele spruiten, blijkt S2U in deze groep gladiolen zeer veel voor te komen.

Onder 3.2 wordt de invloed van de inoculatiemethode, de sporenconcentratie en het tijdstip van inoculatie op de aantasting besproken. Geen infectie treedt op wanneer de sporen aan de basis van de moederknol of in een holte in het knolvlees of met een injectienaald in de jonge knop worden gebracht. Zij moeten zich uitwendig in de nabijheid van de knoppen bevinden om infectie tot stand te kunnen brengen.

Het percentage en de mate van aantasting zijn in sterke mate afhankelijk van inoculatiemethode, sporenconcentratie, cultivar, plantmateriaal (kralen of knollen) en bodemtemperatuur. Vooral na inoculatie onder vacuüm in een sporensuspensie in 1% methylcellulose met 300 tot 500 sporen/mm^3, is het percentage infectie meestal hoog en de aantasting zeer zwaar. Bij planten uit knollen van grootbloemige gladiolen kunnen dan dikwijls in augustus of september symptomen in de binnenste bladeren en de bloeiwijze worden gevonden. Als de knollen op natuurlijker wijze worden besmet, b.v. door ze te schudden met sporenpoeder, komen deze symptomen in S1 zelden voor.

Infectie vindt plaats in de stolonen, kralen en knolschubben binnen enkele weken nadat deze delen met brandsporen in contact zijn gebracht. Gewoonlijk groeit het mycelium via de stolonen tot in het verbindingsstuk van oude en jonge knol, om vervolgens de weefsels van deze organen te doorwoekeren. Naarmate de parasiet het knolvlees eerder bereikt is het aantastingscijfer bij het rooien hoger.

Wanneer in vacuüm geïnoculeerde knollen worden geplant bij optimale bodemtemperatuur, dringt de schimmel na infectie in de buitenste twee of drie basaal ingeplante schedebladeren door tot in de jonge, nog zeer kleine knol. In een onder deze omstandigheden uitgevoerde proef kon reeds zeven weken na

het planten volop mycelium in de vegetatiepunten worden aangetoond. De buitenste twee of drie hoger op de knol ingeplante loofbladeren zijn in dat stadium reeds uitgegroeid, doch alle daarbinnen gelegen delen voeren naderhand de parasiet mee omhoog. Dit heeft tot gevolg dat in de laatste maanden van de groeiperiode de binnenste bladeren en de bloeiwijze van de plant sori te zien geven. Het feit, dat in de zomer van 1959 planten uit in vacuüm geïnoculeerde knollen in hevige mate bovengronds S1-symptomen vertoonden, wordt verklaard door de ongewoon hoge bodemtemperaturen, die al in het begin van de groeiperiode werden geregistreerd.

In 3.3 wordt de invloed van het milieu op de onderscheiden stadia van de ziekte behandeld. Plantdatum, plantdiepte, bemesting en rooidatum bleken geen duidelijke invloed op de mate van aantasting in S1 te hebben.

De resultaten van een proef met in vacuüm geïnoculeerde knollen, die bij verschillende bodemtemperaturen in droge, matig vochtige en vochtige grond werden geplant, leidden tot de conclusie, dat het vochtgehalte van de grond een ondergeschikte rol speelt bij het tot stand komen van S1. Bij 12 en 16 °C was de aantasting in droge grond iets heviger dan onder vochtiger omstandigheden. Bij 20 °C speelde de invloed van het vochtgehalte geen rol van betekenis. De bodemtemperatuur daarentegen is verreweg de belangrijkste factor bij het tot stand komen van de infectie en het verdere verloop van de aantasting. Een temperatuur van 20 °C bleek optimaal te zijn voor de ontwikkeling van de ziekte, hetgeen tot uiting kwam in een sterke ontwikkeling van sori in kralen, knolschubben en -vlees en een hoog aantastingscijfer van de jonge knollen. Bij 16 °C was het verloop minder hevig; in de genoemde proef werden sori uitsluitend waargenomen in de kralen en knolschubben. In grond van 12 °C trad wel infectie op, doch in lichte mate; sorusvorming kwam dan nauwelijks voor en het gemiddelde aantastingscijfer na het rooien was laag. Bij 24 °C en hoger zag de schimmel nauwelijks of geen kans om in de plant binnen te dringen.

De temperatuur tijdens bewaring van zieke knollen in S1B bepaalt of in dit stadium verdere groei van het mycelium plaats vindt. Tussen 13 en 20 °C bleek de schimmel meestal in de loop van enkele maanden tot in het vegetatiepunt op de top van de knol door te dringen. Bij 25½ en 9 °C was de groei, indien deze al plaats vond, nog veel langzamer. Vorming of uitbreiding van sori werd in dit stadium, althans bij grootbloemige gladiolen, niet waargenomen.

Ook de ontwikkeling van de ziekte in S2 is zeer sterk afhankelijk van de bodemtemperatuur. Planten uit knollen met aantastingstype 4 gaven na uitplanten in grond van 12, 16 of 20 °C al direct na opkomst symptomen te zien. Bij 24, 28 en 32 °C was de ontwikkeling van de planten gedurende de gehele groeiperiode gelijk aan die van gezonde exemplaren. Bij 24 °C drong het mycelium van de parasiet langzaam door tot in de jonge knollen en de stolonen, zonder tot vorming van sori over te gaan. Na het rooien was het aantastingstype van de bij deze temperatuur gevormde jonge knollen 3 tot 4.

Bij een bodemtemperatuur van 24 °C trad S1 dus niet of nauwelijks op, doch eenmaal in de knollen aanwezig mycelium kon zich latent in de waardplant handhaven. Knollen, bij een bodemtemperatuur van 28 of 32 °C gevormd op moederknollen met een aantasting van het type 4, bleven geheel vrij van de parasiet. In knollen met een laag aantastingscijfer drong de schim-

mel bij 12 en 16 °C waarschijnlijk langzamer tot in de jonge delen door dan bij 20 °C.

De ontwikkeling van S2 of S2U, dan wel een algehele ontsnapping van de waardplant aan de ziekte, wordt dus bepaald door het aantastingstype van de knollen bij het planten – en dus, afhankelijk van de knolgrootte, door de afstand die het mycelium dan nog af moet leggen alvorens de jonge weefsels te bereiken – en de bodemtemperatuur.

In 3.4 wordt de invloed van de verschillende stadia van de ziekte op de ontwikkeling van de gladiool behandeld. Zolang de aanwezigheid van de schimmel beperkt blijft tot de ondergrondse delen van de waardplant, is er niet of nauwelijks sprake van belemmering van de groei. In S2 en eventueel S1 zijn de gevolgen ernstiger naarmate de parasiet vroeger in het groeiseizoen tot in de bovengrondse delen weet door te dringen.

Onder 3.5 wordt een overzicht gegeven van de *Gladiolus*-species en de cultivars uit de grootbloemige en vroegbloeiende groepen, waarin vatbaarheid voor brand is geconstateerd. Op grond van de resultaten van een inoculatieproef met 57 grootbloemige cultivars mag worden aangenomen, dat circa 50% van de in cultuur zijnde rassen in deze groep vatbaar is voor brand. In de praktijk heeft men de ziekte slechts waargenomen in een zeer klein deel daarvan. Blijkbaar vormt de brandziekte van gladiolen onder Nederlandse omstandigheden dus geen werkelijke bedreiging voor de teelt van dit gewas.

In 3.6 wordt de parasiet nader besproken. Ondanks vele pogingen daartoe lukte het niet sporenkieming in vitro tot stand te brengen. Wanneer de sporen echter in nauw contact worden gebracht met de vatbare delen van de groeiende waardplant, kiemen ze – zij het in gering aantal – binnen 14 dagen. De infectichyfen groeien over de epidermis en dringen, via de cuticula en de middenlamellen van de opperhuidcellen, tot in de subepidermale laag door. De indruk werd verkregen dat de infectie soms ook via de stomata kan geschieden. Spoedig na vestiging doorwoekert de parasiet het parenchymatische weefsel intercellulair. Voornamelijk van de stolonen uit dringt de schimmel door tot in het knolvlees; vooral in de cellen van dit weefsel worden grillige, vertakte haustoriën gevormd. Als het vegetatiepunt op de top van de knol is bereikt, worden alle hierna afgesplitste bladeren doorwoekerd. In deze organen ontstaan dichte, stromatische schimmelmassa's, die de cellen verdringen en overgaan tot vorming van brandsporen. Sporen die in de grond achterblijven behouden minstens drie jaar hun vermogen tot infectie. Gezien de strenge maatregelen die in ons land tegen gladiolebrand worden getroffen, mag de kans, dat besmette grond een belangrijke rol speelt bij het in stand houden van de ziekte, vrijwel worden uitgesloten.

Deel 4 behandelt de bestrijding van de ziekte.

In 4.1 worden de middelen besproken ter voorkoming van S1. Brandsporen in de grond kunnen met diverse fungiciden worden gedood. Goede resultaten zijn bereikt met formaline, chloorbroompropeen, 3,5-dimethyltetrahydro-1, 3, 5, 2 H-thiadiazine-2-thion, methylisothiocyanaat, hexachloorbenzeen en pentachloornitrobenzeen. Indien men bang is voor het optreden van infecties vanuit de grond, komt vooral het laatstgenoemde middel voor praktische toepassing in aanmerking. Infectie door sporen klevend aan het plantmateriaal kan afdoende worden bestreden door een ontsmetting van de knol-

len vlak voor het planten in een oplossing van een kwikbevattend organisch fungicide.

Verschillende methoden om in het knolvlees aanwezig mycelium van de brandzwam te inactiveren, komen in 4.2 ter sprake. Een warmwaterbehandeling van de knollen gedurende een half tot een uur bij 47 °C onderdrukt het voorkomen van S2-planten bij grootbloemige gladiolen zonder het gewas te beschadigen. Sterk uitdrogen van de knollen vóór deze behandeling vermindert de gevoeligheid van de schimmel voor de hoge temperatuur en dient dus te worden vermeden. Evenals het in de embryo's van tarwe en gerst overwinterende mycelium van de stuifbranden, blijkt ook de parasiet in het knolvlees van gladiolen bij lagere temperatuur te worden gedood door een langdurige onderdompeling in water of een anaërobe behandeling. De voor een afdoende bestrijding benodigde tijdsduur van behandeling neemt snel toe, naarmate de temperatuur lager wordt. Het is eveneens mogelijk de brandzwam in de knollen te doden door een droge bewaring gedurende twee tot zes weken bij 34 °C.

In 4.3 wordt aangetoond, dat brandsporen de warmwaterbehandeling bij 47 °C gemakkelijk overleven. Zij kunnen dus in het groeiseizoen, volgende op de doding van het mycelium in het knolvlees, de waardplant opnieuw in S1 brengen. Dit kan worden voorkomen door de met warm water behandelde knollen vlak voor het planten met een kwikbevattende oplossing te ontsmetten. De eventueel in schubsori aanwezige compacte massa's sporen worden daardoor echter niet steeds volledig bestreden, zodat na de gecombineerde behandeling soms toch nog enkele nieuwe infecties worden waargenomen.

Droge brandsporen kunnen een behandeling gedurende een half uur bij 60 °C gemakkelijk overleven. Na 24 uur weken in water worden ze echter reeds gedood door een half uur dompelen in water van 53 °C. Wanneer aan een aantal voorwaarden wordt voldaan, kunnen gladiolekralen, na 48 uur te zijn voorgeweekt, een half uur in water van 53 of 55 °C worden gedompeld, zonder dat dit aanleiding geeft tot verminderde opkomst en groei van de planten. Deze behandeling, die thans in de praktijk wordt toegepast ter bestrijding van andere gladioleziekten, voorkomt tegelijkertijd het optreden van S1 zowel als S2 van brand. De bovenvermelde mogelijkheden tot bestrijding gelden uitsluitend voor de grootbloemige gladiolen.

Bij de vroegbloeiende cultivars, die in 4.4 afzonderlijk worden behandeld, heeft toepassing van een warmwaterbehandeling de volgende bezwaren.

a. Het optreden van S2 wordt dikwijls niet geheel onderdrukt.

b. De knollen van de vroegbloeiende cultivars worden, in tegenstelling tot die van de grootbloemige, gemakkelijk beschadigd.

c. De kans op nieuwe infecties is hier veel groter.

In deze groep van gladiolen wordt een geheel of vrijwel geheel afdoende bestrijding bereikt door de knollen voor het planten met een oplossing van een kwikbevattend fungicide te ontsmetten, tijdens het groeiseizoen gevolgd door zorgvuldige verwijdering van alle planten met een of meer bovengronds zichtbaar aangetaste spruiten.

SUMMARY

1. INTRODUCTION

From the point of view of the cultivation of gladioli, smut, caused by *Urocystis gladiolicola* Ainsw. is of minor importance compared with other diseases affecting this crop. As this smut is not endemic in countries outside Europe, strong measures had to be taken by the phytosanitary officials in the Netherlands to prevent exporting diseased corms. Therefore the study of the biology and control of the fungus, about which nothing was yet known, had to be carried out. The great confusion about the identity of this parasite was finalised by the work of AINSWORTH (1949), who described the smut fungus under its present name.

2. SYMPTOMS

2.1. GENERAL SYMPTOMS

The symptoms arising in the different stages of the disease are fully dealt with. The sori of the fungus, filled with a dark brown to black spore dust, are formed in the leaf- and stem-like parts of the host (fig. 1). Infection of the leaves above soil level impedes more or less seriously the growth of the plants.

2.2. SECONDARY EFFECTS

From an analysis of the macroscopically visible symptoms in the sprouts of 765 plants from a stock of heavily diseased *G.* × *nanus* "Peach Blossom" it is concluded that:

a) diseased corms form more sprouts per plant than healthy ones (table 1), *b*) within a stock the disease is concentrated in the groups with a higher number of sprouts per plant (fig. 2A and B), *c*) in most cases only part of the sprouts of a plant show sori in the leaves (table 1); diseased plants with only one affected sprout are more numerous than those with two or more (fig. 2C), *d*) removal of all plants with one or more sprouts with symptoms, before and during lifting, does not guarantee that the rest of the stock is free of smut (table 2).

Infection by *U. gladiolicola* often breaks dormancy in dormant and newly formed buds in both the early flowering and the large-flowered gladioli. This sometimes gives rise to malformations and sporadically even to witches'-broom like growth in the field and in dry storage (fig. 3).

2.3. SIMULTANEOUS INFECTION BY OTHER PARASITES

It was often observed that smutted plants or corms were simultaneously infected by one of the other *Gladiolus* parasites (viz. *Fusarium oxysporum* f. *gladioli* Snyder et Hans., *Stromatinia gladioli* (Drayt.) Whetz., *Botrytis gladiolorum* Timmermans and *Septoria gladioli* Pass.).

3. BIOLOGY

3.1. THE CYCLE OF INFECTION

3.1.1. *The standard method (S.M.) for microscopical investigation*

Radial sections (0.5 to 0.8 mm thick) through the corms were examined for the presence of latent mycelium of the smut fungus after fixation for 5 to 24 hours in ethanol 95%, clearing in a boiling saturated solution of chloralhydrate and boiling in lactophenol with 0.05% cotton blue for 4 to 5 minutes. Parts of the corm scales or sections through the stolons could be prepared and examined in the same way.

The spread of the mycelium in the corm was assessed by an arbitrary classification in four infection types (fig. 4). In the large-flowered cultivars the fungus always penetrated the corms in the basal parts; in the early flowering ones the infection sometimes started in a node higher up the corm. Corms were given an infection rating, fixed in a mark corresponding with the number of the infection type.

3.1.2. *The first year stage (S1 and S1B)*

A schematical view of the infection cycle as it was determined on the basis of the results, is given in fig. 6.

Smut spores adhering to the scales of corms and cormels or present in the soil where gladioli are grown, can give rise to infections in the course of the growing season (see also SCHENK, 1958). Under the climatological conditions in the Netherlands the parasite seldom succeeds in reaching the leaves above soil in the first year. Only in plants grown from cormels are sori in the leaves sometimes visible in this stage in August or September. The sori can often be observed in stolons, cormels, corm scales and sometimes also in the corm flesh at lifting time. Latent mycelium of the fungus is often present in corms without macroscopical symptoms; on the contrary it is sometimes absent in the flesh of corms with sori in the scales. Under natural conditions the infection rating of the offspring of large corms, just after lifting, is normally 1 or 2; that of corms grown from cormels varies from 1 to 4. The part of the infection cycle just described is called the *first year stage* (S1).

The following stage (S1B), includes development of the disease in the dry corms during storage. The fungus then slowly penetrates further into the corm flesh, the rate of spread depending on temperature (see 3.3.3.).

3.1.3. *The second year and delayed second year stage (S2 and S2U)*

From the results of experiments given in the tables 3, 4 and 5 it is concluded, that the rate of infection of the corms at planting time in the second year has a great effect on the development of the disease. If at that time the parasite has reached the buds at the top of the corm, the main sprouts show symptoms in the leaves as soon as they appear above soil; they die after some weeks and rot away, releasing the spores. The lower the rate of infection at planting time, the longer it takes for the symptoms to appear in the main sprout. Sometimes sori may be observed in the inflorescence only. In some cases an infected plant is evident only by sori in one or more secondary sprouts growing from a bud on the lower part of the corm. If in the second season symptoms appear in the parts above soil, we call this the *second year stage* (S2).

Sori in the leaves sometimes do not occur at all in plants growing from corms of the infection types 1 or 2. Microscopical examination after lifting often shows that the fungus has succeeded in reaching the young corms; occasionally sori are present in the underground parts, in the same way as may be observed at the end of S1. This stage in the development of the disease is called *delayed second year stage* (S2U).

Finally the fungus in diseased corms with a low rate of infection is sometimes not able to penetrate the young tissues at all. In that case the young corms escape infection.

Usually two to five sprouts per plant are formed in the early flowering cultivars, including one or more from buds implanted in the lower half of the mother corm. The chance that a diseased corm gives rise only to sprouts without sori, may be fairly well excluded. Consequently the plant as a whole falls in S2. On the other hand, looking at individual sprouts reveals that S2U is an important phenomenon in this group of gladioli (fig. 5).

3.2. THE INFECTION

3.2.1. *Effect of inoculation method and concentration of spores*

No infection occurs when smut spores are placed in contact with the base of the corm, or in a hole in the corm flesh, or – by means of a syringe – between the young leaves of the bud. They must be in the area outside the buds to be effective (table 6).

The percentage and degree of infection are strongly influenced by inoculation method, concentration of spores, cultivar, plant material (cormels versus corms) and soil temperature (tables 6, 7, 8, 9 and fig. 7, see also 3.3.2). Especially after inoculation under vacuum in a spore suspension with 300 to 500 spores/mm^3, the percentage and rate of infection are usually very high. Plants grown from corms inoculated in a vacuum often show symptoms in the inner leaves of the inflorescence in August or September (table 8). After inoculation of the corms in a more natural way, e.g. by dusting the corms with smut spores, these S1-symptoms in plants from corms are rare.

3.2.2. *Time and place of infection*

The infection takes place in stolons, cormels and corm scales within a couple of weeks after bringing these parts in close contact with smut spores (table 10). Usually the fungus grows from the stolons into the connecting tissue between the old and young corm, and from this point penetrates the flesh of both parts. The earlier the infection is accomplished, the higher is the rate of infection of the corms at lifting time (table 10, fig. 8).

When vacuum inoculated corms are planted in a soil at optimal temperatures for disease development, the smut fungus penetrates the outer two or three sheath-leaves (implanted in the basal node of the young corm) within a fortnight. From there it grows into the still very small young corm, and soon reaches the top. In an experiment carried out under these conditions, an abundance of mycelium was found in the vegetative points, seven weeks after planting. The outer two or three foliage-leaves (implanted in nodes higher up the corm) are fully grown out at that time, and the fungus is not able to penetrate the parts above soil level. The younger leaves and the inflorescence,

however, are invaded by the mycelium in a very early stage of development and carry the fungus as they grow out later on. This explains the appearance of sori in the inner leaves and the flowers in the last months of the growing season. In the summer of 1959 plants growing from vacuum inoculated corms of the cultivar "Dr. Fleming", showed unusual heavy symptoms in S1 (table 8), apparently due to the uncommonly high soil temperatures, observed already in the beginning of the growing period.

3.2.3. *Variable effects of the infection in S1*

At lifting time plants in S1 show different degrees of penetration by the fungus. After infection under natural conditions the situation in plants grown from corms is normally that of fig. 9A, B or C. In plants from cormels the mycelium often succeeds in invading the whole young corm and sometimes even the leaves. In such corms the symptoms may vary widely (fig. 9A to D). In the case of plants from corms the situation of fig. 9D is generally only realized after vacuum inoculation and under growing conditions favourable to the disease.

After lifting, a periderm is formed in the basal parts of the young corms; this enables the roots and old corms to be broken off easily during cleaning. The infection by smut does not interfere with the development of this cork layer, as is the case with some other parasites. In stages of infection such as those shown in fig. 9A and B, this layer may exclude the fungus from the corm flesh in cases where sori in the scales are present.

On the basis of this type of infection it might be expected that in a number of cases, one or more of the cormels of one plant will carry mycelium, even though the corm flesh were free of the pathogen. The reverse, mycelium in the corms but not in the cormels, is less probable. The results of an experiment, given in table 11, confirm this assumption.

3.3. THE EFFECT OF ENVIRONMENT ON THE DIFFERENT STAGES OF THE DISEASE

3.3.1. *Effect of some culture practices in S1*

Planting date, plant depth, dressing and lifting date appeared to have no significant effect on the percentage of infection in S1.

3.3.2. *Effect of soil humidity and temperature in S1*

The result of an experiment with corms inoculated in a vacuum, carried out at different soil temperatures and varying soil moisture levels (table 12), led to the conclusion that soil moisture is of minor importance for the infection in S1 (fig. 12). In soil of 12 and 16 °C the infection in dry soil was slightly heavier than in medium moist and moist soil. At 20 °C the moisture content had no effect at all.

Soil temperature appeared to be by far the most important factor in inducing infection and a high degree of attack (fig. 10 and 11). A soil temperature of 20 °C is optimal for the development of the disease, as was shown by the formation of large sori in cormels, scales and corm flesh and the high rate of infection of the young corms after lifting. At 16 °C the effect of the infection was less severe; in the experiment, sori were formed only in corm scales and

cormels, but not in the corm flesh. At 12 °C a slight infection took place; the sori in the corm scales were very small and inconspicuous and the rate of infection was low. In soil ot 24 °C and higher temperatures the fungus was not able to penetrate the host at all or only to a negligible extent.

3.3.3. *Effect of storage temperature in S1B*

The growth of smut mycelium in the dry corms in storage depends on temperature (fig. 13). Between 13 and 20 °C the fungus in corms with a low rate of infection succeeded in most cases in reaching the vegetative points in the course of several months. At 25½ and 9 °C the growth, if taking place at all, was much slower.

Formation or extension of sori in this stage of the disease was not observed, at least in the large-flowered cultivars.

3.3.4. *Effect of soil temperature in S2*

Soil temperature also has a great effect on the development of the disease in S2 (table 13, fig. 14). Plants growing from corms with a high rate of infection at a soil temperature of 12, 16 or 20 °C, showed the S2-symptoms as soon as they appeared above soil. At 24, 28 and 32 °C the plants grew quite normally, without any sign of smut. The apparently healthy plants were microscopically examined after lifting for the presence of mycelium in the young tissues. At 24 °C the fungus had slowly invaded the corms and stolons, without being able to form sori in the underground parts. The rate of infection of the young corms was 3 to 4. So the conclusion is that at this soil temperature S1 does not occur, but mycelium, once present in the corms, succeeds in growing in the host in a latent form. Corms formed at a temperature of 28 or 32 °C, on mother corms of the infection type 4, were not invaded by the parasite at all and thus escaped attack by the disease. If corms with a low rate of infection are planted, the mycelium apparently grows more slowly at 12 and 16 °C than at 20 °C (see lot III, table 13; probably the rate of infection of the corms at planting was higher than indicated in the table, due to very slow growth of the parasite during the nine months' storage).

So it may be concluded that whether S2 and S2U develop or whether the host totally escapes from the disease, is determined by the rate of infection at planting time, the distance the fungus has to grow before reaching the young tissues, and the soil temperature.

3.4. THE EFFECT OF THE DIFFERENT STAGES OF THE DISEASE ON THE GROWTH OF THE HOST

As long as the presence of the parasite is limited to the underground parts of the plants, the growth of the host is not seriously interfered with (table 14). In S2 and eventually in S1, the consequences of the attack are more damaging the earlier in the season the fungus reaches the leaves above soil level.

The analysis of the infections in a group of corms grown from cormels infested by smut spores, is given in table 15. The figures indicate that the percentage of diseased corms is independent of their size (and consequently of the growth) and that the rate of infection is higher in the smaller corms.

3.5. THE SUSCEPTIBILITY OF GLADIOLUS SPECIES AND CULTIVARS

In table 16 a survey is given of *Gladiolus* species and cultivars in the early flowering and large-flowered groups in which smut has been observed. The results with 57 large-flowered cultivars inoculated in vacuum and planted in a glasshouse, indicate that approximately 50% of the clones in this group are susceptible to smut. In commercial culture the disease has been observed only in 39 out of more than 700 cultivars grown in Holland. Obviously, smut in gladioli is not a real threat to this crop in the Netherlands.

3.6. THE SMUT FUNGUS

3.6.1. *The infection and the mycelium in the host*

Many attempts were made to germinate smut spores in vitro, but without success. When on the other hand, spores were brought in close contact with the susceptible parts of the growing host, germination – to a very small extent – occurred within a fortnight.

The infection hyphae grow over the epidermis and penetrate, via the cuticle and the middle lamellae of the epidermis cells, into the underlying parenchyma tissues (fig. 15). Observations indicate that in some instances infection may take place through the stomata. The parasite grows with an abundance of intercellular mycelium soon after its establishment in the tissues of the host. From the stolons, and eventually the sheath-leaves, the fungus reaches the corm, where often dense masses of hyphae are formed; especially in the cells of his particular part coiled and branched haustoria are formed (fig. 16). After penetration of the vegetative point on top of the corm, all the young leaves are invaded (fig. 17A and B). Starting in the intercellular spaces, stromatic masses of mycelium arise, pushing aside the cells of the mesophyl and forming sori filled with smut spores within a few days (fig. 17C and 18). In some cultivars the symptoms in the leaves are less conspicuous. In these cases the stroma only fills up the intercellular spaces, without much interference with the cells of the host (fig. 17D).

3.6.2. *The longevity of spores in the soil*

Spores, remaining in the soil after a diseased crop, keep their infection capacity for at least three years. The strong measures taken by the Bulb Inspection Service against smut, and the fact that usually only very lightly infected stocks are found in the field (seldom higher than 1%), make it unlikely that infections arising from infested soil are of any importance in the cultivation of gladioli in the Netherlands.

4. CONTROL

4.1. PREVENTION OF SI

4.1.1. *Soil disinfection*

Smut spores in the soil can be killed by several fungicides. Good results were obtained with formalin, chlorobromopropene, 3, 5-dimethyl tetrahydro-1, 3, 5,

2 H-thiadiazine-2-thione, methylisothiocyanate, hexachlorobenzene and pentachloronitrobenzene (table 17). If infection from the soil is expected, the last named chemical is considered especially useful on a field scale, from the viewpoint of economics and ease of application.

4.1.2. *Pre-planting disinfection*

The spores adhering to the plant material are far more important than those in the soil. Effective control of these can be attained by dipping the corms just before planting in a solution of an organic mercuric fungicide (this treatment is generally used against other gladiolus diseases in Holland) or of a phenol compound (table 18).

4.2. PREVENTION OF S2

4.2.1. *Hot-water treatment*

A hot-water treatment of diseased corms for half to one hour at 47 °C kills the mycelium of the parasite in the flesh, without damaging the crop. Strong desiccation of the corms before treatment decreases the sensitivity of the fungus to the high temperature (tables 19 and 20).

4.2.2. *Water-soaking and anaerobic treatment*

Just as the latent mycelium of the loose smuts in the embryos of wheat and barley, the parasite in the corm flesh of gladioli can be killed at lower temperatures by prolonged water-soaking or anaerobic treatments. The time of treatment needed for effective control, increases rapidly with decreasing temperature (table 21).

4.2.3. *Dry storage at 34 °C*

The results of the experiment given in table 19, indicated that the mycelium of gladiolus smut was killed by dry storage at 34 °C for six weeks. Further investigations showed that two to six weeks' storage of diseased corms at 34 °C prevents the appearance of S2-plants in the next growing season.

4.3. PREVENTION OF S1 AND S2 IN ONE STOCK

4.3.1. *New infections after hot-water treatment*

Smut spores appeared to survive the hot-water treatment at 47 °C easily; in the season following the killing of the mycelium in the corm flesh, they are able to give rise to new infections and so the host is brought back in S1 (table 22). To prevent this, hot-water treated corms have to be disinfected before planting using an organic mercuric fungicide. If thick masses of spores occur in sori in the scales they are not always killed completely by this dip, so that some new infections may occur. In the large-flowered cultivars spores in sori in the corm flesh obviously do not infect the young corms (table 23).

4.3.2. *Smut control in cormels*

Dry spores easily survive a treatment lasting half an hour at 60 °C. After a 24 hours' pre-soak in water, they are killed when treated for half an hour at 53 °C (table 24). Presoaked, Dutch-grown cormels can stand a hot-water treatment at 53 or 55 °C for half an hour, without much risk to the crop

(SCHENK, 1961). This treatment is recommended nowadays against other important gladiolus parasites. At the same time it prevents the occurrence of S1 and S2 (table 25).

4.4. SMUT CONTROL IN THE EARLY FLOWERING CULTIVARS

In the group of early flowering gladioli the application of the hot-water treatment at 47 °C has several disadvantages: *a*) the occurrence of S2-plants is not always suppressed (table 27), *b*) the corms of early flowering cultivars are easily damaged, whereas the corms of the large-flowered cultivars are not (table 26), *c*) the risk of new infections is higher, as apparently in this case spores in sori in the corm flesh also lead to new infections.

Complete or nearly complete control is obtained by a pre-planting disinfection of the corms with a solution of an organic mercuric fungicide, followed by discarding all plants with one or more diseased sprouts during the following growing season (tables 26 and 27).

AINSWORTH, G. C., – 1949. The gladiolus smut. Trans. Brit. mycol. Soc. 32:255–257.

BALD, J. G., – 1956. Development and production of pathogen-free gladiolus cormels. Plant Dis. Rep. Suppl. 238:81–84.

BEIJER, J. J., – 1960. Het vervroegen van gladiolen. De Hobaho 34 (29):2.

BRUDER, J., – 1953. The results of hot air treatment of onion sets (transl. title). Kertész. és Szölész. 2: 15–16 (Rev. appl. Myc. 33, 1954:518).

COLLINGE, W. E., – 1912. Gladiolus smut. Urocystis gladioli, Smith. Rep. econ. Biol. 2:49.

DASTUR, J. F., – 1920. The mode of infection by smut in sugar cane. Ann. Bot. 34:391–397.

DODGE, B. O. & T. LASKARIS, – 1941. Papulaspora gladioli. Bull. Torrey bot. Club 68:289–294.

DOLK, H. E. & E. VAN SLOGTEREN, – 1930. Ueber die Atmung und die Absterbeerscheinungen bei Hyacinthen-Zwiebeln bei höheren Temperaturen im Zusammenhang mit der Bekämpfung der Gelbkrankheit. Gartenbauwiss. 4:113–158.

DUNLEAVY, J., – 1956. Kernel smut of big bluestem. Phytopath. 46:116–120.

FISCHER, G. W., – 1945. The mode of infection and the incubation period in the stem smut of grasses, Ustilago spegazzinii (U. hypodytes). Phytopath. 35:525–532.

FISCHER, G. W. & C. S. HOLTON, – 1957. Biology and control of the smut fungi. New York, 622 pp.

GASKIN, T. A., – 1958. Studies on crabgrass smut, Ustilago syntherismae. Plant Dis. Rep. 42: 735–736.

HARTSEMA, A. M., – 1937. Periodieke ontwikkeling van Gladiolus Hybridus, var. Vesuvius. Verhand. Kon. Akad. Wet., 2e sectie, 36:1–35.

HEBERT, T. T., – 1955. A new method of controlling loose smut of barley. Plant Dis. Rep. 39: 20–22.

HECKE, L., – 1926. Die Ansteckung von Blattakselknospen durch Ustilago violacea (Pers.) Fuckel. Fortschr. d. Landwirtsch. (Vienna) 1:150–151.

HOTSON, H. H., – 1942. The morphological distinction between Urocystis gladioli and Papulaspora gladioli. Mycologia 34:52–58.

KASSANIS, B., – 1957. Effects of changing temperature on plant virus diseases. Advances Virus Res. 4:221–241.

LAMB, P. H., – 1930. Annual Report on the Agricultural Department for the year 1929, Nigeria:20 pp.

LEACH, J. G., C. V. LOWTHER & M. A. RYAN, – 1946. Stripe smut (Ustilago striaeformis) in relation to bluegrass improvement. Phytopath. 36:57–72.

LIMBER, D. P., – 1953. Warning to glad bulb growers. Watch for signs of smut fungus, a threat to gladiolus culture. Flor. Exchange 120 (13):17.

LIRO, J. I., – 1922. Ueber die Gattung Tuburcinia Fries. Ann. Univ. Aboensis Ser. A 1:153 pp.

MACLEAN, N. A., – 1951. Gladiolus smut. Phytopath. 41:941 (abstr.).

MOORE, W. C., – 1939. Diseases of bulbs. Min. Agric. Fish., London, Bull. 117, 176 pp.

MOORE, W. C., – 1948. Report on fungus, bacterial and other diseases of crops in England and Wales for the years 1943–1946. Min. Agric. Fish., London, Bull. 139, 80 pp.

NIEMANN, E., – 1956. Fortschritte bei der Bekämpfung des Weizen- und Gerstenflugbrandes (Ustilago tritici [Pers.] Rostr. und U. nuda [Jens.] Rostr.) in den letzten Jahren. I. Die Heiss- und Warmwasserbeizung. Z. Pfl.-Krankh. Pfl.-Schutz 63:389–404.

[illegible] F. – 1917. Neue Wege zur Bekämpfung des Weizen- und Gerstenflugbrandes (Ustilago tritici [Pers.] Rostr. und U. nuda [Jens.] Rostr.). Z. Pfl.-Krankh. Pfl.-Schutz 27: 73–86.

Nowell, W. [illegible]. – 1924. Studies on the parasitism of Urocystis tritici Koern., the organism causing flag smut of wheat. J. agr. Res. 27: 451–489.

Oort, A. J. P. & W. M. Bruine. – 1951. Types of seedling reaction of Kawvale and Wilgoyen wheat to three physiologic races of Ustilago tritici. Phytopath. 41: 813–816.

Oort, A. J. P. – 1945. Onderzoek naar een snel toets II. Overgevoeligheid van larven voor stuifbrand (Ustilago tritici). T. Pl.-Ziekten 50: 73–106.

Paul, H. – 1927. Der Kreuzbastard und Verwandtschaft der Gladiole. In: Handbuch – Dahlien und Gladiolen – Paul Parey, Berlin, p. 243–268.

Paul, H. – 1930. Krankheiten und Schädlinge der Zierpflanzen. Paul Parey, Berlin-Hamburg, 559 pp.

Pethybridge, G. H. – 1926. Report on the occurrence of fungus, bacterial and allied diseases of crops in England and Wales for the years 1922–1924. Minr. Publ. Min. Agric. Fish., London, 97 pp.

Prunet, A. – 1930. Remarques complémentaires sur la détection du charbon interne du blé (Ustilago tritici [Pers.] Jens.). Ann. Serv. botan. agron. Tunesie 28: 55–65.

Rademacher, B. – 1926. Zur Frage der Warmwasserbehandlung des Saatgutes bei der Flugbrandbekämpfung II. Mitteilung. Pfl.-Schutzber. 17: 1–26.

Rademacher, B. – 1928. Zur Frage der Flugbrandbekämpfung mittels Entquellung oder Benetzung des Saatgutes. Z. Pfl.-Krankh. 65 (8): 472–475.

Rutgers, N. van. – 1924. Verslag over de werkzaamheden van den Plantenziektenkundigen Dienst in het jaar 1923. Verh. Meded. Pl.-Ziektenk. Dienst Wag. 34. 66 pp.

Poeteren, N. van, – 1925. Verslag over de werkzaamheden van den Plantenziektenkundigen Dienst in het jaar 1924. Verh. Meded. Pl.-Ziektenk. Dienst Wag. 41. 62 pp.

Poeteren, N. van, – 1928. Verslag over de werkzaamheden van den Plantenziektenkundigen Dienst in het jaar 1926. Verh. Meded. Pl.-Ziektenk. Dienst Wag. 51. 100 pp.

Poeteren, N. van. – 1929. Verslag over de werkzaamheden van den Plantenziektenkundigen Dienst in het jaar 1927. Verh. Meded. Pl.-Ziektenk. Dienst Wag. 55. 93 pp.

Pope, W. – 1951. Infection in seeds and seedlings of wheat and barley in relation to development of loose-smut. Phytopath. 41: 261–175.

Pope, W. – 1952. An improved method of detecting loose-smut mycelium in whole embryos of wheat and barley. Phytopath. 48: 641–643.

Pope W. – 1959. A new approach to the embryo test for predicting loose-smut of wheat in adult plants. Phytopath. 49: 75–78.

Prasad, N., – 1945. Long smut of sorghum – method of infection. Curr. Sci. 14: 239.

Rademacher, B. & K. F. Baicu & J. G. Baicu. – 1957. Hot-water treatment of gladiolus corms for the eradication of Fusarium oxysporum f. gladioli. Hilgardia 26: 659–664.

Schenk, P. K. – 1956. De bestrijding van gladiolenziekten. Wbl. Bloemb.-Cult. 66: 467.

Schenk, P. K. – 1958. De infectiecyclus van Urocystis gladiolicola op gladiolen. T. Pl.-Ziekten 64: 475–478.

Schenk, P. K., – 1959. Warmwaterbehandeling van gladiolenbollen. Wbl. Bloemb.-Cult. 70: 246 en 251.

Schenk, P. K. – 1960a. Haarden van gladiolen, veroorzaakt door Septoria gladioli. T. Pl.-Ziekten 66: 205–227.

Schenk, P. K. – 1960b. De warmwaterbehandeling van kralen, een belangrijk hulpmiddel in de strijd tegen gladioleziekten. Wbl. Bloemb.-Cult. 71: 330–332.

Schenk, P. K., – 1961. Warmwaterbehandeling van gladiolekralen. Meded. Dir. Tuinb. 24: 173–185.

Scurti, J. C., – 1955. Le colture industriali dei gladioli e le malattie che le insidiano. Ann. Sper. agr., N.S. 9 (1), suppl.:97–106 (Engl. summary).

Smith, W. G., – 1876. The gladiolus disease. Gard.'s Chron. 6:420–422.

Stepanova, M. Y., – 1954. Heating sunflower seeds as a method of controlling Sclerotinia (transl. title). Trud. vsesoyuz. Inst. Zashch. Rast. 5: 115–119 (Rev. appl. Myc. 36, 1957: 765–766).

Tyner, L. E., – 1951. Control of loose smut of barley by chemical and physical treatments. Sci. Agr. 31:187–192.

Tyner, L. E., – 1953. The control of loose smut of barley and wheat by Spergon and by soaking in water at room temperature. Phytopath. 43:313–316.

Wagner, F., – 1959. Zur Problematik der chemischen Flugbrandbekämpfung. Mitt. biol. Bundesanst. Land- u. Forstwirtsch., Berlin-Dahlem 97:211–215.

Wagner, F., – 1960. Versuchsergebnisse 1959 zur Bekämpfung des Gerstenflugbrandes mit chemischen Mitteln. Prakt. Bl. Pfl.-Bau Pfl.-Schutz. 55:44–55.

Wernham, C. C., – 1938. Chlamydospore production on artificial media by Urocystis gladioli. Phytopath. 28:598–600.

Zalessky, V., – 1935. Anaerobic method for the control of loose smut of wheat (transl. title). Pl. Prot. Leningrad 1935 (1):135–138 (Rev. appl. Myc. 15, 1936:431).

T. Pl.-ziekten 67 (1961): 317–332

L'INFLUENCE DE LA RADIATION ULTRA-VIOLETTE PROCHE SUR LE POUVOIR GERMINATIF DES CONIDESI DE *PERONOSPORA ARBORESCENS*[1]

Met een samenvatting: De invloed van ultra-violette straling op het kiemingsvermogen van de conidiën van Peronospora arborescens

PAR

G. A. DE WEILLE

Institut Royal Météorologique des Pays-Bas (K.N.M.I.), De Bilt

INTRODUCTION

Lors des recherches sur la relation entre les conditions climatologiques et l'occurrence du mildiou de la pomme de terre, la physiologie de ses conidies était une fois de plus soumise à une examination précise à cause du fait que quelques opinions actuelles étaient mises en doute. Afin de savoir à quel point les résultats des recherches ont une validité (plus) générale, quelques espèces apparentées au mildiou nommé étaient également incorporées dans les expériences, p.ex. *Peronospora arborescens* (Berk.) de Bary, le mildiou du pavot; e.a. la sensibilité de ses conidies à une irradiation ultra-violette était examinée.

Dans la littérature, qui est en effet très riche sur ce point, il est bien connu qu'en général la formation des conidies des Peronosporacées exige une haute humidité relative de l'air (h.r.) et que leur germination nécessite la présence d'eau liquide. Si l'on emprunte la route des prédictions des maladies des plantes, par conséquence les points de départ doivent être:

1° que le matériel infectant soit suffisamment présent,
2° que le milieu de formation des conidies ait été en existence pendant une certaine période minimum (haute h.r.); et il faut contrôler
3° si le matériel qui vient d'être formé retienne oui ou non sa faculté germinative (voir e.a. cette recherche), et, enfin,
4° si le milieu de germination (eau liquide) existera oui ou non pendant un laps de temps d'une durée minimum.

Étant donnés les deux premiers points, les deux derniers nous restent pour les prédictions. Jusqu'à présent le quatrième point a attiré avant tout l'attention. Parfois c'est peut-être en rapport avec le troisième point que quelques épidémies attendues n'ont pas lieu.

En un climat dans lequel le milieu de formation ne fait jamais défaut on a pu développer un système d'avertissements basé sur le pouvoir germinatif lors d'une autre maladie (DE WEILLE, 1960, *Exobasidium vexans*). Dans ce cas le facteur du temps employé comme critère était la durée totale journalière de l'ensoleillement direct, e.a. en raison de l'action fongicide de la partie ultra-violette de ce facteur.

Les résultats obtenus avec *Exobasidium*, mentionnés ci-dessus, donnaient lieu à l'auteur d'examiner l'influence sur la faculté germinative de quelques Perono-

[1] Accepté pour publication le 14 mai 1961.

sporacées des facteurs externes, ci-conclue la radiation. Les expériences d'irradiation avec des conidies du mildiou du pavot, auquel cet article se borne, étaient les premières d'un complexe d'expériences exécutées aussi bien au laboratoire qu'à la campagne.

Connaissance générale actuelle sur l'influence de la radiation sur la germination

Mise à mort et inhibition

Sur les divers processus une influence est exercée par la radiation, lors de laquelle cet article se restreint aux radiations lumineuses et u.v. Lors des moisissures ceux-ci peuvent être la sporulation, la germination et la croissance du mycelium. Si en plus nous nous bornons à la germination, on peut faire remarquer que, en dehors du ralentissement ou accélération du processus germinatif. son arrêt ou la mort des spores font également partie des possibilités. La mort des spores est effectuée par le rayonnement d'onde courte, pourvu que l'organisme irradié soit sensible à ce rayonnement, principalement l'ultraviolet. Dans le cadre de cet article le rayonnement –X sera passé sous silence.

La sensibilité à l'irradiation u.v. est e.a. déterminée par la pigmentation de la cellule, l'épaisseur de sa paroi et son âge. Aux radiations de différentes longueurs d'onde la sensibilité varie.

En ce qui concerne le dernier point, la règle générale que la radiation de la longueur d'onde la plus courte ralentit le plus fort ou est la plus létale, s'applique approximativement (Smith, 1936).

Tandis que l'action létale semble être réservée surtout à la radiation ultraviolette (Laurent, 1889, *Ustilago carbo*), l'action ralentissante est trouvée jusque bien avant dans la lumière (Porter & Bockstahler, 1928; Smith, 1936). Sorokin (1874, teneur générale) et de Weille (1960, *Exobasidium vexans*) trouvaient que – à quoi l'on pourrait s'attendre d'ailleurs – dans la région du rayonnement visible c'est le bleu qui exerce l'action la plus freinante sur la germination. De Bary (1863) était déjà d'avis que la lumière met obstacle à la germination des spores d'Oömycetes. Ceci était contesté par Melhus (1911, 1915) pour les cas dans lesquels les températures (t) ne soient pas trop hautes. À une haute température la lumière rendrait pourtant impossible la germination des conidies de *Cystopus*. Sur ce point, au K.N.M.I. des expériences n'ont pas encore donné une image distincte. De la lumière diffuse pas exceptionellement forte ne produit aucun effet.

Des petites doses d'u.v. effectuent un relentissement de la germination pendant un laps de temps qui est beaucoup plus long que la durée d'irradiation (Schulze, 1917, *Mucor stolonifer*; Pomper & Atwood, 1955, div. esp.).

L'importance de la longueur d'onde (λ) pour l'effet est démontrée par le suivant: à 2537 Å Zahl e.a. (1939, *Aspergillus niger*) trouvaient une activité maximum; à 3129 Å, avec 2×10^4 ergmm^{-2}, ils obtenaient encore une mortalité de 30%, mais alors ils ne trouvaient plus d'effet tuant à 3650 Å. Pour obtenir une mortalité de 50% il fallait à Oster (1934b, *Saccharomyces*) 457 ergmm^{-2} à λ = 2652 Å, mais 23500 ergmm^{-2} à λ = 3022 Å. Des données pareilles ont été fournies par Luyet (1932, Mucoraceae).

Ce qui précède manifeste aussi que c'est la dose radiante (intensité (i) × durée (d)) qui détermine l'effet au même λ, ce qui, en effet, va sans dire. À d dimi-

nuant on trouve resp. mise à mort, ralentissement de germination et aucun effet (LUYET, 1930, Mucoraceae); cela passe également pour i diminuant (DILLON-WESTON & HALNAN, 1930; FULTON & COBLENTZ, 1920). RENTSCHLER e.a. (1941, bactéries) montraient que la dose létale moyenne est tant que telle ne se laisse pas influencer par l'intensité. À un très haut i, d étant 10^{-6} sec., cela compte encore.

Le *caractère* de l'organisme irradié contient aussi une spécifique sensibilité à l'u.v.; OSTER (1934b) communique que lors de *Saccharomyces* une mortalité de 50% nécessite environ 5 fois l'énergie qui est nécessaire pour obtenir un tel effet lors de *Staphylococcus*.

Sans doute la sensibilité à l'u.v. est en relation avec l'absence ou présence de *pigment*. Parfois la résistance des spores colorées est frappante. D'après CHAVARRIA & CLARK (1924) c'est par absorption de l'u.v. que le pigment soutire la nucléole au danger de l'irradiation. D'après GATES (1928) il y a une proportion inverse entre l'énergie nécessaire pour tuer des bactéries et l'absorption de l'u.v. dans le protoplasme.

Peut-être l'épaisseur de la paroi cellulaire exerce-t-elle une certaine influence? BIEBL (1942) communiquait que, pour tuer des cellules d'*Allium*, d'autant plus grandes doses d'u.v. sont nécessaires à mesure que les parois des cellules sont plus épaisses. Antérieurement METZNER (1930) toutefois rapportait que les parois sont à peu près librement parcourrues par l'u.v., mais il y aurait une certaine degrée de dispersion.

Une haute *température*, d'ailleurs par soi-même mauvaise pour la durée de la vie de la plupart des spores (BEHR, 1956, *Peronospora arborescens*; ANGELL & HILL, 1931, *P. parasitica*, *P. hyoscyami*) augmente l'effet d'irradiation. Par rapport à l'action létale aux levures et bactéries entre 8 et $29\frac{1}{2}$°C OSTER (1934a) calculait un coëfficient moyen de température de 1,10, indiquant l'augmentation de l'effet radiant par augmentation de t d'une degrée C.

Comment l'u.v. opère exactement sur (le noyau de) la cellule soit laissé de côté ici; mais le fait soit mentionné que, plus tard, l'inactivation peut être suivie par un rétablissement, effectué sous l'influence d'une beaucoup plus grande dose de rayonnement visible (GIESE e.a., 1953, *Colpidium*). Les rapports relatifs au λ le plus favorable au rétablissement diffèrent.

Stimulation

La stimulation par l'u.v. en petites doses de la croissance de levures, celle de la germination et l'augmentation du pouvoir germinatif ont été démontrées par quelques auteurs (POMPER & ATWOOD, 1955, levures, *Mucor* sp.; BAILEY, 1932, *Fusarium sp.*), tandis que d'autres les démentissent (LUYET, 1932, Mucoraceae). En ce qui concerne la vitesse de croissance une divergence d'opinions se présente également.

Lors des diverses Peronosporacées et avec de l'u.v. d'assez longues ondes l'auteur de cet article a toujours constaté de la stimulation. Possiblement les résultats d'autres écrivains sont liés à l'usage des sources radiantes d'un caractère différent à plus courtes ondes, le plus souvent des soleils d'altitude, lors desquelles les doses létales sont si petites que les durées des irradiations doivent parfois être mesurées en secondes.

Lumière solaire

Il semblait très désirable à l'auteur de donner concisement mais d'une manière pas trop incomplète un résumé afin de fixer l'attention sur un facteur climatologique rarement étudié dans des cercles agricoles. En faisant cela il est aussi redevable de répondre à la question de ce que l'on peut en faire pratiquement.

Dans la pratique il faut tenir compte de la lumière solaire (directe et indirecte) contenant plus ou moins du rayonnement u.v. de longues ondes (principalement $\geqslant$ 3130 Å), sous la dépendance des nuages et de la vapeur d'eau atmosphérique. Il s'agit alors d'une radiation qui – aux termes d'u.v. en sens plus large – produit un faible effet (Fulton & Coblentz, 1920) et qui est accompagnée d'une beaucoup plus grande quantité de lumière. Cet u.v. solaire produit-il encore quelque chose contre des spores de moisissures? Ou, parlant plus pratiquement, la lumière solaire fait-elle quelque chose dans le domaine mycologique?

La littérature ne donne que peu d'indications. Schulze (1917), qui tuait des spores de *Mucor stolonifer* par 14 min. d'irradiation u.v. de 2800 Å, communiquait en outre que de la lumière solaire intensive estivale prévient la germination lors d'*Aspergillus glaucus*. Mais après 4 journées d'irradiation les spores n'avaient pas été tuées. Reed & Crabill (1915) communiquaient que des sporidies de *Gymnosporangium juniperi-virginianae*, qui, au sec, tiennent 5 à 6 jours, sont tués par 2 à 5 h. d'exposition à la lumière solaire directe. Hwang (1942) fait savoir qu'une intensité de lumière solaire estimée modéré dans sa région de travail d'alors, Minnesota, É.U. (max. journ. de 75000 lux en mai et au commencement de juin), réduit la durée de vie des urédospores de certains charbons des céréales de plus qu'un mois à 12–14 jours. Il y aurait une relation directe entre l'intensité lumineuse et la rapidité avec laquelle la force vitale des spores se perd.

Probablement la lumière solaire possède des qualités fongicides, du moins par rapport aux spores non-pigmenteés, ce qui est rendu plausible par les expériences décrites ci-après.

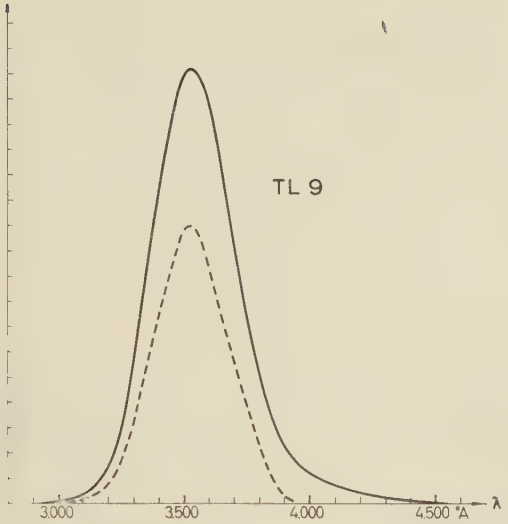
Exécution des expériences d'irradiation

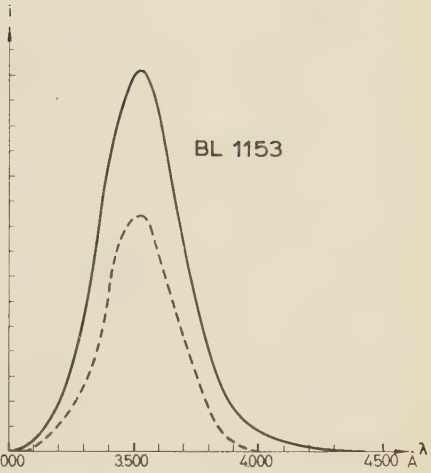
Sources de radiation

Conforme à des intentions à monter un soleil artificiel, qui rendrait possible l'usage de la période hibernale entre les expériences de campagne pour étudier le comportement de germes pathogéniques dans un climat réglable, exactement connu, comprenant une radiation aussi naturelle que possible, on se mit en contact avec Philips S.A., Eindhoven, Pays-Bas. Conséquemment, celle-ci mit à notre disposition quatre types de tubes à décharge TL; 5 pièces de chaqu'un de ces types. Ces sources radiantes ne sont pas dans le commerce. Pour les expériences en question 10 tubes, alternativement des types TL 9 (20 W, 220 V) et BL 1153, furent suspendus à une hauteur de 35 cm, parallèlement au plan irradié. Les spectres d'émission, d'après des données de la part du fabricant, on peut trouver dans les figures 1 et 2 et le spectre totale moyen de la batterie employée en fig. 3.

En regardant ces spectres il devient apparent que les tubes employés remplissent trois importantes conditions qu'il faut poser à une bonne imitation des événements naturels, c-à-d.

1. Le spectre doit contenir exclusivement de l'u.v. aussi trouvé dans le rayonnement solaire reçu à la surface terrestre. D'éventuelles actions biologiques par la





FIGURES 1 ET 2. Spectres d'émission des tubes à décharge employés. La part enrégistrée par l'apparature est inclue par la ligne brisée. Pour interprétation voir fig. 4.

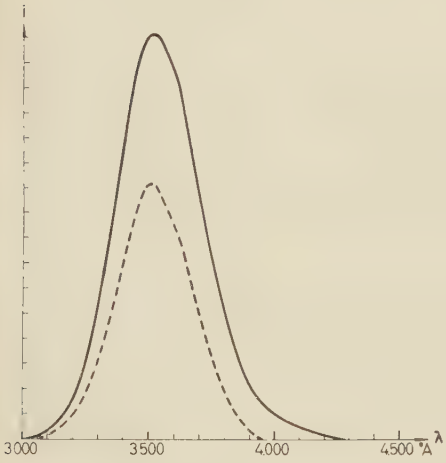


FIG. 3. Spectre des irradiations.

batterie de lampes seront donc raisonnablement réprésentatives pour des actions solaires analogues.

2. Le spectre ne doit pas contenir de composantes qui causent un réchauffement de la surface irradiée.

Vu la courte distance cela serait imaginable. En effet des mesurages de température montrent que les lampes sont à peu près des rayonneurs froids, et assurément à l'égard d'un objet à une distance de 35 cm.

3. Dans son ordre l'intensité u.v. doit être au moins comparable à celle du soleil. Pour vérifier cela on passe à l'exécution de mesurages du rayonnement.

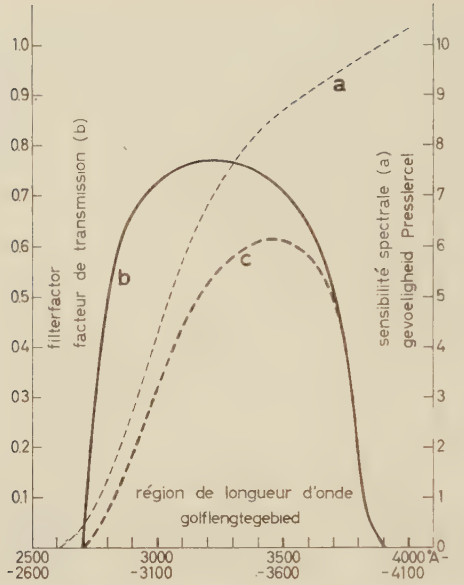


FIG. 4. Caractéristique de la cellule photoélectr. (a) et le filtre (b). La courbe c (a × b) enferme la part enrégistrée. D'après VASSY (1958).

Mesurage de radiation

Pour mesurer la radiation u.v. une cellule photo-électrique, la cellule Pressler-Sb, fut employée. Parce que la sensibilité de cette cellule s'étend bien loin dans le spectre visible on monte là-devant un filtre UG 11, qui coupe toute radiation au-dessus de 3900 Å. Une impression de ce que la combinaison de la cellule et du filtre laisse passer et transmet est donnée par fig. 4. En France et en Belgique la cellule a été ajoutée parfois aux radiosondes.

Afin d'aussi enrégistrer l'u.v. diffus devant la fenêtre-u.v. on peut monter une capsule sphéroidale de quartz, qui est un peu plus d'une demie-boule. La petite boule, qui a aussi été employée lors des mesurages de l'auteur, appartient à l'équipement normal de la cellule. Liée à un galvanomètre-mV la cellule photo par nature n'indique pas des unités de radiation.

Par conséquence plusieurs auteurs tiennent donc pour les a.n. „unités relatives", qui font tellement obstacle à la comparaison et la combinaison des résultats provenant de diverses sources. Sans prétendre une exactitude très précise, quelques fixations d'intensité assez satisfaisantes en unités absolues ont pu être réalisées.

L'appareil à mesurage fut comparé avec le rayonnement global u.v. solaire d'un ciel serein, pour quel but quelques séries de mesurage furent réalisées à des différents moments. Les résultats en mV furent mis en grafique en combinaison avec des valeurs, trouvées par DE BOER (1959) lors du rayonnement solaire à De Bilt, Pays-Bas, dans la même période annuelle (mai-juin), après que la partie transmise par le filtre et admise par la cellule eût été calculée. Voir aussi fig. 5. $M_{min.}$ était ca. $1\frac{1}{4}$.

La proportion des énergies reçues et mesurées sous les tubes à décharge

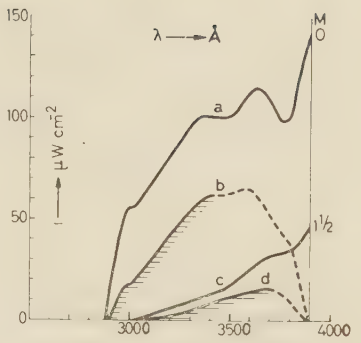


FIG. 5. Radiation u.v. régnante[1] (a, c) et enrégistrée[2] (b, d) lors des masses d'air 0 et 1½; ciel serein. M (dépendant de la solstice) = nombre des épaisseurs atmosphériques parcourrues. M = 0 se rapporte à la situation hors de l'atmosphère. M = 1 indiquerait que l'atmosphère est parcourrue à plomb.

[1] Voir p. ex. SAUBERER & HÄRTEL, 1957.
[2] Voir fig. 4.

était déjà connue. En comparant les chiffres relatifs à l'intensité u.v. des expériences biologiques avec ceux de DE BOER (1959) l'intensité radiante put être déterminée.

De l'absorption atmosphérique (FABRY & BUISSON, 1921) pourrait provoquer certaines erreurs, qui n'ont pas pu être controlées. Mais en vue de la régularité des séries de résultats elles ne seront pas grandes.

Intégrée de $\lambda_{min.}$ à 3900 Å, l'énergie radiante u.v. qui irradie la surface des recherches serait, selon les calculations, environ 130 mcalcm^{-2}h^{-1}, ou près que 54500 ergmm^{-2}h^{-1}.

Cela corresponderait à la situation à la campagne sous un ciel serein au mois de décembre entre 9 et 10 heures le matin, ou à la situation moyenne en mai entre 18 et 19 h. Mais parce que l'intensité maximum des tubes à décharge se trouve à 3500 Å et celle de l'u.v. solaire (dans la région mesurée jusqu'à 3900 Å) à 3900 Å (moins actif) nous pourrions peut-être plutôt faire des comparaisons avec la situation à la campagne en juin/juillet vers le soir. Ainsi le point de départ peut être que le rayonnement dans les expériences et l'u.v. naturel sont du même ordre ou des ordres comparables.

Matériel végétal

Des recherches relatives à l'influence du milieu sur des spores de moisissures ont coutume de fournir un matériel de chiffres inextricablement capricieux. Cela est possiblement parce que

a. les spores n'appartiennent pas toutes au même univers partiel homogène, une population (quantité de matériel) statistique uniforme. Communément la *homogénéité* est perturbée par des différences en âge et substrat, qui changent l'univers.

b. Les spores sont recoltées tout le temps pendant l'expérience de sorte qu'on obtienne chaque fois du matériel d'autres propriétés. Chez des spores nouvellement formées il y a pendant la journée un processus de *maturation*, qui fait que – à part de l'expérience – le pouvoir germinatif initial plus tard dans la journée peut être beaucoup plus fort que le matin.

Éventuellement une diminution, suivie oui ou non d'une nouvelle augmentation de la faculté germinative peut se produire après quelque temps. Dans une atmosphère défavorable le pouvoir germinatif peut assez vite commencer à diminuer. Au lieu de la méthode souvent appliquée de récolte graduelle il est donc utile qu'on suive celle de *la récolte de toutes les spores à la fois.*

Très peu a été écrit sur cette maturation des spores: ISTVÁNFFI & PÁLINKÁS (1913, *Plasmopara viticola*) en faisaient mention. Quoique des données de connaisseurs de *Peronospora* fassent présumer à haute humidité atmosphérique une augmentation initiale de la faculté germinative, c'était pourtant principalement la régression observée pendant des périodes prolongées qui avait frappé les chercheurs (e.a. BEHR, 1956; CROSIER, 1934, *Phytophthora infestans*).

Les spores impliquées dans les expériences d'irradiation appartenaient à une population homogène; toutes en furent recoltées au même instant.

Une population homogène fut obtenue par l'utilisation du fait que la lumière forte s'oppose à la sporulation de certaines moisissures (YARWOOD, 1937, *Pseudoperonospora*, *Peronospora*, *Plasmopara*, *Bremia*). De divers côtés cela est contesté (CROSIER, 1934; MELHUS, 1911, 1915; etc.), mais pour sûr cela paraissait-il tenir debout pour *Peronospora arborescens*.

Des petites plantes de *Papaver somniferum*, mises à disposition par l'I.P.O. (Inst. de Rech. Phytopathologiques, Wageningen, Pays-Bas), infectées à Wageningen avec *Peronospora arborescens*, furent placées sous un éclairage continu jusqu'à ce que la pénétration était estimée suffisante. Alors il y avaient même des sporophores, mais sans conidies. Puis les plantes furent mises en obscurité pendant une nuit à une h.r. de 100%. Le lendemain matin beaucoup de conidies vinrent d'être formés. Avec ces conidies les expériences furent réalisées.

Méthode

Des pavots infectés en pots furent constamment tenus à une distance de 30–50 cm d'une source radiante du type Philips TL 33, 40 W, 220 V. Avant les expériences cette illumination fut éteinte au 14me mars 1960 à 17 h. Alors une nuit d'obscurité naturelle suivit, pendant laquelle l'h.r. était haute, parce que les plantes furent mises dans des exsiccateurs contenant de l'eau. Le lendemain à 8 h.30 les feuilles infectées portaient des conidies en abondance. Vers 9 h. ce matériel sporal fut récolté à coups de pinceau et mis sur les verres d'objet; ensuite ces verres furent ternis d'haleine et placés dans des plats Petri à une h.r. de 100%. Par conséquence les conidies se trouvaient dans ou entre des petites gouttes d'eau. Cette situation fut maintenue pendant 23 h. De cette période les verres avec les conidies passaient resp. 0, $\frac{1}{4}$, 1, $1\frac{1}{2}$ et 3 h. sans couverture sous l'irradiation u.v. à une distance de 35 cm; t était 16 C. Puis elles furent mises en obscurité à 14°C pour la germination. Après le traitement de 23 h. les préparations furent tuées en flambant et colorées avec du bleu méthylenique aqueux et enfin regardées par un microscope en glycérine sous des lames de verre. Pour les résultats voir fig. 6.

Le lendemain une pareille expérience fut réalisée avec un autre groupe de plantes. Mais maintenant les conidies furent traités pendant $3\frac{1}{2}$ h. dans des plats Petri ouverts à une h.r. de 85% et une t de 16 C. La durée d'irradiation était 0, $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{2}$, 1, $1\frac{1}{2}$, 2 ou $3\frac{1}{2}$ h. Puis les conidies pouvaient germer dans une rosée artificielle pendant 20 h. à 14°C.

L'expérience fut réalisée en double dans des plats Petri dont le coté intérieur du couvercle et le fond étaient couverts de papier à filtrer trempé. Un groupe de préparations germina en obscurité (résultats voir fig. 7), l'autre à une distance de 50 cm sous un tube TL 33 de 40 W (résultats voir fig. 8). L'intensité de l'éclairage sous le papier à filtrer n'était que de 240 lux. La reste des actions s'écoula comme

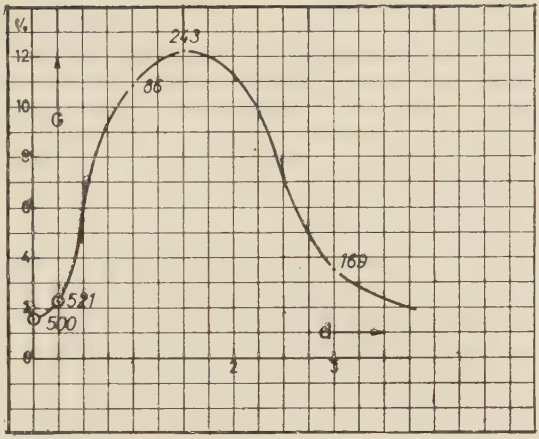


FIG. 6. Pourcentages de germination obtenus après des irradiations u.v. de durée variante. Durées d'irradiation d en heures. Germination G en %; t = 16°C; h.r. = 100%. Conidies dans *milieu humide*. Chez les valeurs la grandeur des échantillons est donnée; ⊙ : échantillon de grandeur significative.

chez la première série. Si possible 500 (ou plus) conidies furent contés de chaque échantillon.

RÉSULTATS

Les résultats sont présentés dans les fig. 6, 7 et 8, dans lesquelles les nombres de conidies comptés sont indiqués chez les pourcentages de germination trouvés. Nous voyons qu'une petite dose d'u.v. fait augmenter la faculté germinative et qu'une plus grande dose défait cette stimulation et même est fongicide. En outre que l'exposition simultanée à une h.r. de 85% pendant $3\frac{1}{2}$ heures ou moins n'est pas du tout saillante et que la germination en obscurité et à 240 lux est à peu

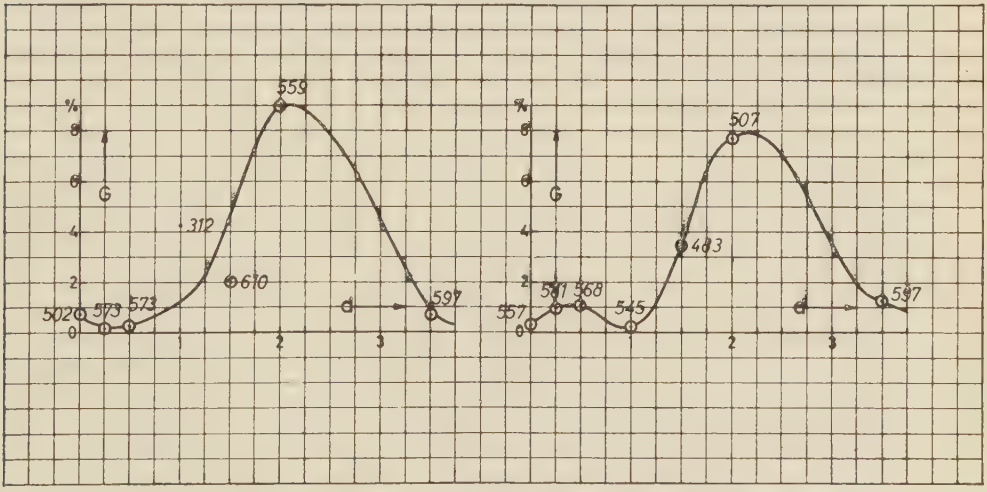


FIG. 7. Germination en obscurité.

FIG. 8. Germination en lumière.

Pourcentages de germination obtenus après des irradiations u.v. de durée variante. Division comme fig. 6; t = 16°C; h.r. = 85%. *Milieu sec.*

près la même. Dans cet article on entend par la faculté germinative le pourcentage des conidies germés – dans un échantillon de 500 éléments – après un séjour d'environ 20 h. dans le milieu de germination (rosée artificielle; t = ca. 14°C).

Valeur des résultats

Épreuve de signification

On pourrait s'imaginer que la variabilité du matériel végétal soit telle qu'on obtienne par hasard une courbe du modèle représenté dans la fig. 6. La question se présente donc: à quel point est-il probable que, dans une population sporale homogène d'une faculté germinative basale de, disons 1 %, sans irradiations il y auront des différences aussi grandes que celles représentées par la courbe d'inactivation? Pour répondre à cette question il faut qu'on étudie les variations possibles dans les pourcentages trouvés f_k de chaque échantillon k.

En répétant les expériences chaque f_k montrerait un écart type à l'égard de la fréquence relative moyenne, donné par $s_k = \sqrt{\frac{f_k(100-f_k)}{n}}$, n étant la grandeur de l'échantillon (= nombre de conidies comptés).

Pour examiner si les différences entre f_o de l'objet-0 (non-irradié) et f_k sont réelles et pas fortuites nous voulons utiliser l'expression suivante pour l'écart type de chaque différence: $\sigma_{diff.k} = \sqrt{s_o^2 + s_k^2}$; k = 1, 2, 3 etc.

De chaque différence x avec le résultat de l'objet-0 l'écart type fut fixé; puis la proportion x/σ fut calculée. Dans l'hypothèse que les 2 échantillons proviennent du même univers homogène la probabilité pour une déviation $x\ \sigma \geqslant 2$ est encore 5%. P′ = 100—P = 100 — la probabilité décrite = la probabilité que $|x| < 2$ ou la probabilité que la déviation limite de 2σ ne soit pas surpassée: $|x_k| \geqslant 2_k$ correspond donc à P′ = 095. Il est donc improbable qu'une différence $x_k > 2\sigma_k$ ne reposerait pas sur l'irradiation mais sur l'hasard. On peut nommer $x_k/\sigma_k \geqslant 2$ significative et $x_k/\sigma_k < 2$ non-significative.

Tableau 1 donne les résultats des expériences, leur x/σ et leur P′.

Tableau 1. Pour l'explication voir le texte. G = f_k

Voir fig. 6					Voir fig. 7					Voir fig. 8				
k (no.)	G (%)	x/σ	P′ (%)	d (h.)	k (no.)	G (°o)	x/σ	P′ (°o)	d (h.)	k (no.)	G (°o)	x/σ	P′ (°o)	d (h.)
0	1,6	–	–	0	0	0,7	–	–	0	0	0,3	–	–	0
1	2,3	0,8	058	¼	1	0,2	1,2	077	¼	1	0,9	1,3	081	¼
					2	0,3	0,9	063	½	2	1,0	1,5	087	½
2	*10,9*	2,7	*099*	1	3	*4,2*	2,9	*100*	1	3	0,1	0,8	058	1
3	*12,3*	4,9	*100*	1½	4	2,0	1,9	*094*	1½	4	*3,4*	3,6	*100*	1½
					5	*9,0*	6,5	*100*	2	5	*7,7*	6,1	*100*	2
4	3,6	1,3	081	3										
					6	0,7	0,0	050	3½	6	1,2	1,8	093	3½

P'_k est donc la probabilité en °o que dans une population homogène les différences soient plus petites que $2\sigma_k$. Du tableau 1 on peut conclure que l'effet de radiation observé est réel et qu'il peut impossiblement être une manifestation du hasard.

Épreuve de confiance

Le phénomène signalé soit donc réel, mais à quel point peut-on se fier aux données? La forme des courbes est-elle, en principe, véritablement comme celle présentée dans les figures? Une épreuve serait désirable.

Pour ce but nous calculons la moyenne des G conformables et y obtenons une série de 8 valeurs. De 7 valeurs une erreur moyenne peut être calculée. La grandeur de l'échantillon pourrait être utilisée comme poids (g).

Alors les erreurs des moyennes pondérales $\bar{x}_{g_k}$ seront $\sigma(\bar{x}_g)_k \sim \sqrt{\frac{[g\,u\,u]}{(n-1)\,[g]}}$, dans lequel n = nombre des observations, u = déviation de $\bar{x}_g$ et $[\,] \equiv \Sigma$.

En regardant les données il paraît que quelques hauts pourcentages de germination reposent sur des dénombrements de peu de conidies. Si ces petits nombres recevraient un g disproportionnellement léger c'est donc évident que leur influence est amoindrie hors de proportion. Pour ce but un décernement de poids fort discriminant a été introduit; voir fig. 9. La discrimination est basée sur des considérations biologiques.

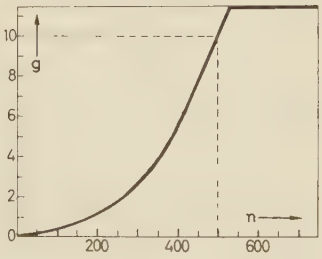


FIG. 9. Pour l'explication voir le texte.

Maintenant quelques observations très significatives reçoivent un très petit poids. Si en tant que telle l'ainsi nommé courbe d'inactivation reste en existence malgré le décernement de poids qui agit fortement au détriment de l'explication donnée ici, on peut considérer les phénomènes qu'elle dépeint comme des faits prouvés.

Comme écrit, il y a une raison biologique pour le décernement discriminant de poids. La confiance d'un échantillon de 500 spores n'est pas 5 × celle d'un de 100 spores mais relativement beaucoup plus grande. Chez les Peronosporacées les conidies germés ne sont pas trouvés régulièrement dispersé parmi les conidies non-germés, mais plus ou moins concentré à certains endroits. Dans un échantillon de 100 spores un complexe de spores germés peut être présent oui ou non. Par conséquence le pourcentage de germination trouvé peut devenir resp. 20 ou 2%. Aussi des échantillons de peu de spores produisent-ils souvent des grafiques capricieux, tandis qu'avec des échantillons de $\geqslant$ 500 spores des courbes plus régulières sont obtenues. Un conidium germant procède manifestement une stimulation germinative, de sorte que les conidies germinés se trouvent les uns près des autres. À l'égard de *Coprinus fimetarius* QUINTANILHA (1933) même trouvait une frappante relation entre la grandeur des échantillons et leur pouvoir germinatif. Lors de la germination de quelques espèces de spores de moisissures, BROWN (1946) démontrait l'existence de certains activateurs, p. ex. du tissu de la plante hôtesse.

Avec beaucoup de matériel il doit être possible de fixer statistiquement la stimulation mutuelle des conidies des Peronosporacées et avec elle le décernement des poids. Une pareille expérience sera exécutée en 1961 pourvu que les circonstances le permettent.

En outre les données deviennent plus sûres à mesure que la durée de la germination est plus longue. Des périodes germinatives < 15 h. ne sont pas trop dignes de foi, particulièrement quand un ralentissement à cause d'irradiation se manifeste, qui doit être surmonté d'abord afin que la détermination du pouvoir germinatif soit intègre. C'est pour cette raison que l'auteur laisse germiner son matériel pendant 16 h. ou plus longtemps; aujourd'hui parfois même pendant 40 h. Lors de 8 moisissures dissemblables CHOWDHURY (1937) démontrait que la germination maximum n'est obtenue qu'après 70 à 124 heures. Parce que dans la nature pour les Peronosporacées une période à feuilles mouillées de 16 h. peut être nommée longue l'auteur estime justifié cette durée de germination.

Tableau 2 donne des chiffres relatifs à la calculation des erreurs.

TABLEAU 2. Pour l'explication voir le texte.

d	n	g	x (=G_k)	$\bar{x}_g$	$\sigma(\bar{x}_g)$	d	n	g	x (=G_k)	$\bar{x}_g$	$\sigma(\bar{x}_g)$
0	500	10	1,6			$1\frac{1}{2}$	243	2	12,3		
0	502	10	0,7	0,85	0,38	$1\frac{1}{2}$	610	11	2,0	3,53	2,23
0	557	11	0,3			$1\frac{1}{2}$	483	5	3,4		
$\frac{1}{4}$	521	11	2,3								
$\frac{1}{4}$	573	11	0,2	1,13	0,50	2	559	11	9,0		
$\frac{1}{4}$	581	11	0,9			2	507	10	7,7	8,38	0,64
$\frac{1}{2}$	573	11	0,3								
$\frac{1}{2}$	568	11	1,0	0,65	3,49	3	169	1	3,6	3,6	(1,43)[1]
1	86	1	10,9								
1	312	3	4,2	1,64	2,09	$3\frac{1}{2}$	597	11	0,7		
1	545	11	0,1			$3\frac{1}{2}$	597	11	1,2	0,95	0,25

[1] Écart type s_4, employé dans les calculations pour tableau 1.

Tableau 2, mis en grafique avec les sigmas, nous donne fig. 10, qui donne aussi la dispersion. On y voit que, même en employant le défavorable décernement de poids appliqué et avec des erreurs extrêmes le caractère de la courbe d'inactivation reste indéniablement le même, de sorte que l'auteur estime justifié la conclusion suivante.

CONCLUSION

Le rayonnement u.v., comme il se produit dans le spectre solaire près de la surface terrestre, influence la germination des conidies de *Peronospora arborescens* (Berk.) de By. Cette influence n'est pas liée à l'humidité de l'air. Des petites doses de radiation u.v. activent les conidies. Des plus grandes doses exercent une influence fongicide. Dans les expériences décrites le point culminant se produisait après environ 2 heures d'irradiation non-interrompue.

Réflexions

Il va sans dire qu'il faut faire jouer aussi un rôle les sensibilités aux radiations des conidies de *Peronospora* et de *Phytophthora* dans les systèmes d'avertissement qui ont rapport aux maladies causées par eux. Cette possibilité est encore étudiée; l'auteur espère y revenir dans des publications prochaines.

En ce qui concerne le mildiou du pavot, dont le transfert durant la saison par des conidies – d'après Behr (1956) – est d'importance secondaire, des avertissements ont peu de sens, mais pour la *Peronospora destructor* dans les oignons la situation est une autre. L'auteur y reviendra prochainement.

L'emploi des sources radiantes artificielles fongicides est quelque chose auquelle peu de personnes ont pensé parfois. Tiedjens (1929) employait un éclairage par quoi la „combustion lente" (damping-off) des plantes satives de concombres était empêchée. Hey & Carter (1931) employaient l'irradiation u.v. pour protéger les plantes satives de blé contre *Erysiphe graminis*. Imschenetzky & Nasarowa (1937) combattaient des moisissures attaquant le bois par une irradiation à onde courte.

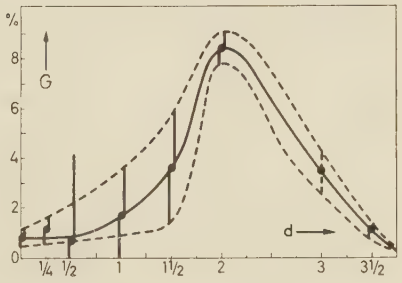


Fig. 10. Pour l'explication voir le texte.

Il reste toujours à savoir de quelle façon il existe des possibilités réelles dans ce domaine; c'est encore un point d'interrogation.

Résumé

Dans le cadre des recherches de l'Inst. Royal Météorologique des Pays-Bas, portantes sur l'influence des conditions climatologiques sur l'occurrence du mildiou de la pomme de terre, certaines espèces apparentées à *Phytophthora* étaient également étudiées. Une de ces recherches secondaires sur la nature génerale des *Peronosporaceae* consistait dans les expériments d'irradiation discutées avec des conidies de *Peronospora arborescens*. Pendant des périodes d'une durée différente ils étaient exposés à une radiation ultraviolette artificielle dont l'intensité maximum se trouvait à une longueur d'onde de 3500 Å.

Les résultats montrent que des petites doses de lumière u.v. augmentent considérablement le pouvoir germinatif des conidies tandis que des plus grandes doses, observées dans la campagne en général, exercent une influence distinctement fongicide. Cette action est indépendante de l'humidité relative de l'air, de sorte que la pensée d'attribuer une telle influence à l'ensoleillement naturel est bien évidente, ainsi que l'idée de ne plus négliger l'ensoleillement lors des recherches épidémiologiques sur les Peronosporaceae.

Samenvatting

In het kader van het K.N.M.I.-onderzoek naar de samenhang tussen het weer en het optreden van aardappelziekte werden behalve *Phytophthora infestans* ook enige hiermee verwante soorten onderzocht teneinde na te gaan, in hoeverre bepaalde verschijnselen van ruimere strekking zijn.

Eén van die nevenonderzoekingen was als volgt:

Conidiën van *Peronospora arborescens* werden gedurende tijdsbestekken van uiteenlopende duur blootgesteld aan kunstmatige ultraviolette straling met een intensiteitsmaximum bij 3500 Å. De spectra der betrokken ontladingsbuizen (fig. 1, 2 en 3) bevatten geen straling van (korte) golflengten, die buiten in het zonnespectrum niet voorkomen. De deugdelijkheid van de zonne-imitatie volgt voorts ook uit de intensiteitsmetingen met een van een u.v.-filter voorziene antimooncel (karakteristiek daarvan: fig. 4); gemeten werd ongeveer 54500 ergmm $^{-2}$ u $^{-1}$, vergelijkbaar met de u.v. zonneënergie bij vrij lage zonnestand.

Uit het gegeven literatuuroverzicht blijkt dat binnen de grenzen der natuurlijke straling, te velde aan te treffen, de fungicide werking daarvan des te groter is naarmate de golflengte kleiner is. Uit fig. 5 volgt dat de gebruikte kunstmatige straling voor fungicide werking gunstiger is samengesteld dan zonnestraling, wat als tegenwicht moge gelden voor de wat lagere intensiteit van de eerste, die dus representatief wordt geacht voor wat er buiten aan u.v. optreedt.

De proefuitkomsten (zie fig. 6, 7 en 8) tonen aan dat kleine doses u.v. het kiemvermogen belangrijk verhogen, terwijl grotere doses, zoals die te velde algemeen voorkomen, een duidelijke fungicide invloed uitoefenen. Dit effect is onafhankelijk van de relatieve luchtvochtigheid. Het ligt voor de hand aan de in de open lucht optredende directe zonneschijn een dergelijke fungicide werking toe te schrijven en de factor zonneschijn bij het epidemiologische onderzoek inzake de Peronosporales niet meer te verwaarlozen.

Als proefuitkomst werd gevonden de z.g. inactiveringskromme, waarvan statistisch werd aangetoond dat hij niet op toeval berust (zie tabel 1). Eveneens werd in de betrouwbaarheidstoets statistisch aangetoond, dat in de figuren het karakter van de kromme juist is getroffen (gewichtstoekenning: fig. 9; kromme der gewogen gemiddelden en de bandspreiding daarvan: fig. 10; foutenberekening: tabel 2).

De inactiveringskromme is slechts (re)produceerbaar met sporenmateriaal uit een z.g. homogene populatie (zie hiertoe onder „Matériel végétal").

Littérature

Angell, H. R. & A. V. Hill, – 1931. The longevity of the conidia of certain fungi (Peronosporales) under dry conditions. Council Sci. and Industr. Res. (Austral.) J. 4: 178–181.

Bailey, A. A., – 1932. Effects of ultraviolet radiation upon representative species of Fusarium. Bot. Gaz. 94: 225–271.

Bary, A. de, – 1863. Recherches sur le développement de quelques champignons parasites. Ann. Sci. nat., Sér. IV, Bot., Pt. 20: 5–148.

Behr, L., – 1956. Der falsche Mehltau am Mohn (Peronospora arborescens (Berk.) de By). Phytopath. Z. 27: 289–334.

Biebl, R., - 1942. Wirkung der ultravioletten Strahlung auf Allium-Zellen. Protoplasma 36: 491–513.

Boer, H. J. de, - 1959. De hoeveelheid ultraviolet licht in de globale straling te de Bilt. K.N.M.I., Wet. Rapp. 59–6.

Brown, R., – 1946. Biological stimulation in germination. Nature 157: 64–69.

Chavarria, A. P. & J. H. Clark, – 1924. The reaction of pathogenic fungi to ultraviolet light and the role played by pigment in this reaction. Am. J. Hyg. 4: 639–649.
Chowdhury, S., – 1937. Germination of fungal spores in relation to atmospheric humidity. Ind. J. Agr. Sci. 7: 653–657.
Crosier, W., – 1934. Studies in the biology of Phytophthora infestans (Mont.) de By. Agr. Exp. Sta. Cornell Univ., Mem. 155.
Dillon-Weston, W. A. R. & E. T. Halnan, – 1930. The fungicidal action of ultraviolet radiation. Phytopathology 20: 959–965.
Fabry, C. & H. Buisson, – 1921. Étude de l'extrémité ultra-violette du spectre solaire. J. Phys. et Radium, Sér. VI, 2: 197–226.
Fulton, H. R. & W. W. Coblentz, – 1920. The fungicidal action of ultra-violet radiation. J. agr. Res. 38: 159–168.
Gates, F. L., – 1928. On nuclear derivatives and the lethal action of ultra-violet light. Science 68: 479–480.
Giese, A. C., R. M. Iverson, D. C. Shepard, C. Jacobson & C. L. Brandt, – 1953. Quantum relations in photoreactivation of Colpidium. J. gen. Physiol. 37: 249–258.
Hey, G. L. & J. E. Carter, – 1931. The effect of ultraviolet light radiation on the vegetative growth of wheat seedlings and their infection by Erysiphe graminis. Phytopathology 21: 695–699.
Hwang, L., – 1942. The effect of light and temperature on the viability of uredospores of certain cereal rusts. Phytopathology 32: 699–711.
Imschenetzkij, A. A. & E. S. Nasarowa, – 1937. Über die Einwirkung ultrakurzer Wellen auf holzzerstörende Pilze. (Russe). Isw. Akad. nauk, Ser. Biol., Moscou: 221–230. (Réf. Forsch.-Dienst 4, 1937: 3).
Istvánffi, G. & C. Pálinkás, – 1913. Infektionsversuche mit Peronospora. Zbl. Bakterienk. II. Abt., Band 32: 551–564.
Laurent, E., – 1889. Influence de la lumière sur les spores du charbon des céréales. C.R. Soc. Roy. Bot. Belg. 28: 162–164.
Luyet, B. J., – 1930. The killing of moulds by an ordinary electric bulb. Proc. Soc. exp. Biol. and Med., New York meeting, Apr., Vol. 27: 668–670.
Luyet, B. J., – 1932. The effects of ultra-violet, X- and cathode rays on the spores of Mucoraceae. Radiology 18: 1019–1022.
Melhus, E., – 1911. Experiments on spore germination and infection in certain species of Oömycetes. Wisconsin Agr. Exp. Sta., Res. Bull. 15: 25–91.
Melhus, E., – 1915. Germination and infection with the fungus of the late blight of potato. Wisconsin Agr. Exp. Sta., Res. Bull. 37: 1–64.
Metzner, P., – 1930. Über das optische Verhalten der Pflanzengewebe im langwelligen ultravioletten Licht. Planta 10: 281–313.
Oster, R. H., – 1934a. Results of irradiating Saccharomyces with monochromatic ultra-violet light II. The influence of modifying factors. J. gen. Physiol. 18: 248–250.
Oster, R. H., – 1934b. Id. III. The absorption of ultra-violet energy by yeast. J. gen. Physiol. 18: 251–254.
Pomper, S. & K. C. Atwood, – 1955. Radiation studies on fungi. Rad. Biology, Vol. II: 431–453. Éd. par A. Hollaender. Mc Graw Hill Book Cy., New York.
Porter, C. L. & H. W. Bockstahler, – 1928. Concerning the reaction of certain fungi to various wave lengths of light. Indiana Acad. Sci., Proc. 38: 133–135.
Quintanilha, A., – 1933. Sur le pouvoir germinatif des spores de Coprinus. C. R. Soc. Biol., 26 oct. (Soc. port. Biol., Sect. de Coimbre) 115: 456–458.
Reed, H. S. & C. H. Crabill, – 1915. The cedar rust disease of apples caused by Gymnosporangium juniperi-virginianae Schw. Virginia. Agr. Exp. Sta., Techn. Bull. 9.
Rentschler, H. C., R. Nagy & C. Mouromseff, – 1941. Bactericidal effect of ultra-violet light. J. Bacteriol. 41: 745.
Sauberer, F. & O. Härtel, – 1957. Pflanze und Strahlung. Akad. Verl. Ges. Geert & Portig, Leipzig.
Schreiber, M., – 1934. Strahlenbiologische Untersuchungen, besonders im ultravioletten Spektralbezirk, an Saccharomyces turbidans Hansen. Strahlentherapie 49: 541–595.
Schulze, J., – 1917. Über die Einwirkung der Lichtstrahlen von 280 mμ Wellenlänge auf Pflanzenzellen. Beih. Bot. Zbl. 25: 30–80.
Smith, E. C., – 1936. The effects of radiation on fungi. Dans: Biol. Effects of Radiation, Éd. par Duggar, B.M., Vol. II, New York/Lond.: 889–918.
Sorokin, N., – 1874. Über die Wirkung des Lichtes auf die Pilze. Bot. Jahresber. 2: 214.

Tiedjens, V. A., – 1929. Controlling damping-off with electric lamps. Science 69: 226.
Vassy, A., – 1958. Radiosonde spéciale pour la mesure de la répartition verticale de l'ozone atmosphérique. J. sci. Météor. 10: 63–75.
Weille, G. A. de, – 1960. Blister blight (Exobasidium vexans) in tea and its relationship with environmental conditions. Neth. J. agr. Sci. 8: 183–210.
Yarwood, C. E., – 1937. The relation of light to the diurnal cycle of sporulation of certain downy mildews. J. agr. Res. 54: 365–373.
Zahl, P. A., L. R. Koller & C. P. Haskins, – 1939. The effects of ultraviolet radiation on spores of the fungus Aspergillus niger. J. gen. Physiol. 22: 689–698.

T.Pl.-ziekten 67 (1961): 333–342

HET TOETSEN VAN AARDAPPELKNOLLEN OP DE AANWEZIGHEID VAN Y^N-VIRUS[1]

With a summary: Testing of potato tubers for the presence of virus Y^N

DOOR

J. A. DE BOKX

Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek, Wageningen

INLEIDING

Als het gebruik van aangesneden aardappelknollen als inoculum voor de bladtoets een betrouwbaar resultaat zou geven omtrent de aanwezigheid van virus in de knol, zou de toetsing van pootgoed veel sneller kunnen geschieden dan indien sap van spruiten of bladeren als inoculum aangewend moet worden. NIENHAUS (1960) voerde een aantal experimenten uit met tabak als toetsplant en aangesneden, kunstmatig tot spruiten gebrachte knollen als inoculum. De knollen, die secundair met Y-virus waren besmet, werden aan het naveleinde aangesneden. De verkregen snijvlakken werden vervolgens met de toetsbladeren in aanraking gebracht. Volgens deze methode zou het Y-virus zeer betrouwbaar kunnen worden aangetoond.

Het zou echter nog belangrijker zijn, indien vroeg gerooide, niet spruitende knollen volgens deze methode getoetst zouden kunnen worden. In het volgende zullen daarom een aantal proeven worden beschreven, die werden uitgevoerd met het doel gegevens te verkrijgen omtrent de mogelijkheid van het toetsen van knollen op verschillende tijdstippen na het rooien.

MATERIAAL EN METHODIEK

Door aardappelplanten in de kas met Y^N-virus te inoculeren, werden in het najaar van 1960 knollen verkregen, die in meer of mindere mate met dit virus besmet waren. Van deze knollen werd met een ontsmet mes een kapje van ongeveer $^1/_2$ cm dikte, zowel van het basale als van het apicale deel van de knol, afgesneden. De aldus aan de knol verkregen snijvlakken werden ieder op een indicatorblad getoetst. Deze toetsing, aangeduid met „knoltoetsing", geschiedde door het snijvlak van de knol onder zachte druk in aanraking te brengen met de toetsbladeren, die van te voren lichtelijk bestrooid waren met carborundumpoeder 500 mesh. Verder werden knollen op aanwezigheid van Y^N-virus onderzocht met behulp van spruitinoculum (= „spruittoetsing"). Hierbij werden spruiten met behulp van een handpers gekneusd. De gekneusde spruitenmassa werd vervolgens met een ontsmet pincet met de toetsbladeren in aanraking gebracht. De ontsmetting van mes en pincet geschiedde door dompeling in een verzadigde zeepoplossing, gevolgd door afspoeling met stromend leidingwater.

Veelal verkeerden de knollen nog in kiemrust omdat direkt na het rooien met

[1] Aangenomen voor publikatie 25 aug. 1961.

de toetsingen werd aangevangen. Om echter snel over aardappelspruiten te kunnen beschikken, werd de kiemrust der knollen kunstmatig met behulp van „rindite" gebroken (DENNY, 1945). Nadat de knollen en spruiten op aanwezigheid van Y-virus waren onderzocht, werden de knollen in de kas uitgeplant. Het bladsap van de uit deze knollen gegroeide plantjes werd vier weken na het planten met behulp van de bladtoets op aanwezigheid van Y-virus onderzocht. Deze laatste toetsing, in het vervolg aangeduid met „plantjestoetsing", werd bepalend geacht voor het al of niet aanwezig zijn van het virus in de knol.

Door van kunstmatig geïnfecteerde planten uit te gaan, kan worden nagegaan welk verband er bestaat tussen de leeftijd der geïnoculeerde planten, de aanwezigheid van virus in de knol en de resultaten van de toetsingen. Verder behoeft er geen twijfel te bestaan aangaande het virus, dat wordt getoetst. Bij knollen, verzameld in praktijkvelden, is het nl. mogelijk dat een ander aardappelvirus in het spel is, dat geen of onduidelijke symptomen op het toetsblad doet ontstaan.

Als toetsplant werd vrijwel alleen „A6" (kruising van *Solanum demissum* en Aquila) gebruikt. De toetsingen werden hoofdzakelijk in de wintermaanden uitgevoerd. Hoewel de toegepaste bijbelichting bij de kruising A6 niet tot een maximale bladproduktie leidde, was deze onder de genoemde omstandigheden toch veel beter dan bij *Solanum demissum* „Y" (SdY). In vele gevallen ging *Solanum demissum* „Y" onder de gebruikte lage lichtintensiteit nl. tot knolvorming over en stierf vervolgens af.

Voor elke toetsing werd slechts één toetsblad gebruikt. De bewaring en behandeling der toetsbladeren werd op reeds eerder beschreven wijze uitgevoerd (DE BOKX, 1960).

RESULTATEN

De eerste proef bestond uit drie series planten van het ras Bintje, die respectievelijk op een leeftijd van zes, acht en tien weken besmet werden met Y^N-virus. In elk serie werden acht planten gerooid, respectievelijk 10, 17 en 24 dagen na inoculatie. Van elke plant kon slechts de grootste knol voor toetsing op A6-blad worden gebruikt, daar de resterende knollen voor het verkrijgen van gegevens betreffende ouderdomsresistentie benut moesten worden. De toetsing van de knollen geschiedde 4 weken na het rooien van de laatste serie, waaruit volgt, dat de knollen van de eerste serie toen al 10 weken waren bewaard. De toetsing der knollen had plaats voordat de kiemrust der knollen kunstmatig werd gebroken. In tabel 1 zijn de uitkomsten van de eerste proef weergegeven.

Een vrij hoog percentage der besmette knollen van de planten, die op een leeftijd van zes en acht weken waren geïnoculeerd, kon achterhaald worden. Het is opvallend, dat bij planten die werden geïnoculeerd toen zij 10 weken oud waren, slechts besmetting bij één knol werd aangetoond. Uit de gegevens zou geconcludeerd kunnen worden, dat met het krooneinde van de knol als inoculum in meer knollen het Y^N-virus kon worden vastgesteld dan met het naveleinde.

In deze proef zijn ook toetsingen op SdY-blad uitgevoerd. Uit tabel 2 blijkt, dat de resultaten hiervan niet overeenstemmen met die, verkregen met A6-toetsblad. Uit de gegevens blijkt nl., dat hier met aangesneden naveleinden

TABEL 1. Verband tussen het aantonen van Y^N-virus in de knol (ras Bintje) met A6-toetsblad en het tijdstip van inoculatie en rooien van de plant.
Relation between the detection of virus Y^N in tubers by means of A6-testleaves and the dates of inoculation and harvesting.

Leeftijd der planten in weken bij inoculatie *Age of plants in weeks at inoculation*	Aantal dagen tussen inoculatie en rooien *Interval in days between inoculation and harvesting*	Naveleinde[1] *Heel end of tuber*[1]	Krooneinde[1] *Eye end of tuber*[1]	Aantal knollen waarin aan navel- en kroon-einde virus werd aangetoond *Number of infected tubers in which virus was detected at both heel- and eye-ends*	Werkelijk aantal knollen met virus besmet (volgens planjestoetsing) *Number of tubers infected by the virus detected by means of "tuber indexing"*
6	10	4/8	3/8	2	8
	17	3/6	5/6	2	6
	24	6/8	7/8	5	8
8	10	3/7	1/7	1	7
	17	1/8	4/8	0	7
	24	2/8	7/8	1	8
10	10	0/8	0/8	0	8
	17	1/8	0/8	0	8
	24	0/8	0/8	0	8

[1] Teller = aantal knollen, waarin Y^N-virus werd aangetoond.
Noemer = totaal aantal knollen.
[1] *Numerator = number of infected tubers detected by test.*
Denominator = total number of tubers tested.

TABEL 2. Verband tussen het aantonen van Y^N-virus in de knol (ras Bintje) met SdY-toetsblad en het tijdstip van inoculatie en rooien van de plant.
Relation between the detection of virus Y^N in the tubers by means of SdY-test leaves and the dates of inoculation and harvesting.

Leeftijd der planten in weken bij inoculatie *Age of plants in weeks at inoculation*	Aantal dagen tussen inoculatie en rooien *Interval in days between inoculation and harvesting*	Naveleinde[1] *Heel end*[1]	Krooneinde[1] *Eye end*[1]	Werkelijk aantal knollen met virus besmet (volgens plantjestoetsing) *Number of tubers infected by the virus detected by means of "tuber indexing"*	Aantal knollen waarin Y-virus werd vastgesteld door A6- en SdY-toetsblad *Number of infected tubers detected on both A6- and SdY-testleaves*	
					Naveleinde *Heel end*	Krooneinde *Eye end*
6	10	5/8	2/8	8	5	4
	17	4/6	1/6	6	6	5
	24	7/8	2/8	8	8	7
8	10	5/7	1/7	7	6	2
	17	2/8	3/8	7	2	5
	24	2/8	1/8	8	4	7
10	10	0/8	0/8	8	–	–
	17	0/8	0/8	8	–	–
	24	1/8	1/8	8	–	–

[1] Teller = aantal knollen, waarin Y^N-virus werd aangetoond.
Noemer = totaal aantal knollen.
[1] *Numerator = number of infected tubers detected by test.*
Denominator = total number of tubers tested.

als inoculum de meeste besmette knollen aangetoond kunnen worden. Het is niet te verklaren, waarom de resultaten met A6 en SdY niet met elkaar in overeenstemming zijn. Worden de resultaten van beide toetsplanten gecombineerd, dan is er geen verschil tussen de uitkomsten voor de beide einden van de knol. Hierbij moet wel bedacht worden, dat in de series met A6 en SdY niet steeds dezelfde knollen als ziek werden aangetoond. Geconcludeerd kan worden, dat meer met Y^N-virus besmette knollen konden worden aangetoond naarmate het tijdstip van rooien later werd gekozen.

Een tweede, soortgelijke proef werd uitgevoerd met planten van het ras Record. De inoculatie met Y^N-virus werd uitgevoerd op een blad halverwege de stengel, toen de planten zes weken oud waren. Het rooien van telkens vijf planten geschiedde respectievelijk 13, 19, 21, 26, 29 en 34 dagen na inoculatie. Bij deze proef werden vrijwel alleen de naveleinden van de knollen op aanwezigheid van Y^N-virus getoetst. De toetsing van de krooneinden werd slechts uitgevoerd bij rooien 29 dagen na inoculatie. In dit geval werd in dezelfde knollen virus aangetoond als bij toetsing van de naveleinden.

Uit tabel 3 blijkt, dat vlak na het rooien geen virus in de knol kon worden aangetoond, wel echter in knollen die vrij lang na de inoculatie werden gerooid.

TABEL 3. Aantal knollen (ras Record), waarin Y^N-virus werd aangetoond door middel van de A6-bladtoets op het tijdstip van rooien en vier weken na het rooien. Het aangesneden naveleinde van de knol is als inoculum gebruikt.
Number of infected tubers detected by means of the A6-leaf test when tested at harvest time and four weeks after harvest. The cut heel end of the tuber was used as inoculum.

Aantal dagen tussen inoculatie en rooien *Interval in days between inoculation and harvesting*	Getoetst op tijdstip van rooien[1] *Tested at harvesting*[1]	Getoetst vier weken na rooien[1] *Tested four weeks after harvesting*[1]	Aantal besmette knollen volgens plantjestoetsing *Number of infected tubers detected by "tuber indexing"*
13	0/30 = 0%	17/38 = 56%	11/16 = 70%
19	0/45 = 0%	31/45 = 69%	36/39 = 92%
21	0/39 = 0%	17/39 = 43%	31/33 = 94%
26	7/43 = 16%	29/48 = 60%	22/25 = 88%
29	12/49 = 24%	48/49 = 98%	27/34 = 80%
34	17/43 = 40%	15/43 = 35%	26/29 = 90%

[1] Telier = aantal knollen, waarin Y^N-virus werd vastgesteld.
Noemer = totaal aantal knollen.
[1] *Numerator = number of infected tubers detected by test.*
Denominator = total number of tubers tested.

Het is niet uit te maken, op welk moment na de inoculatie alle knollen als ziek kunnen worden onderkend. De leeftijd der planten speelt hierbij waarschijnlijk een rol, zoals uit de resultaten van de derde proef blijkt. Deze proef bestond uit planten van het ras Bintje, die respectievelijk zeven, acht, negen en tien weken na het planten met Y^N-virus geïnoculeerd werden. Het rooien der acht en negen weken oude planten had respectievelijk zeven en 14 dagen na inoculatie plaats, terwijl de zeven en tien weken oude planten respectievelijk 42 en 14 dagen na inoculatie werden gerooid.

Volgens de resultaten van deze proef (tabel 4) kon bij planten van het ras Bintje, die op een leeftijd van zeven weken waren geïnoculeerd, 42 dagen na inoculatie met het Y^N-virus, bij gebruik van aangesneden knollen als inocu-

lum, in 76% van de besmette knollen het Y^N-virus direct bij het rooien worden aangetoond.

TABEL 4. Aantal knollen (ras Bintje), waarin Y^N-virus werd vastgesteld door middel van de A6-bladtoets onmiddellijk en zes weken na het rooien. Het aangesneden naveleinde der knol is als inoculum gebruikt.
Number of infected tubers detected by means of A6-leaf test when tested at harvest time and six weeks after harvest. The cut heel end of the tuber was used as inoculum.

Leeftijd der planten in weken bij inoculatie *Age of plants in weeks at inoculation*	Aantal dagen tussen inoculatie en rooien *Interval in days between inoculation and harvesting*	Getoetst op tijdstip van rooien[1] *Tested at time of harvesting*[1]	Getoetst zes weken na het rooien, twee weken na het breken van de kiemrust[1] *Tested six weeks after harvesting, two weeks after breaking dormancy*[1]	Aantal besmette knollen volgens planjestoetsing[1] *Number of infected tubers detected by "tuber indexing"*[1]	Aantal besmette knollen volgens spruittoetsing[1] *Number of infected tubers detected by testing sprouts*[1]
7	42	22/29 = 76%	27/29 = 93%	29/29 = 100%	29/29 = 100%
8	7	2/14 = 14%	2/14 = 14%	2/14 = 14%	1/14 = 7%
	14	0/19 = 0%	15/19 = 80%	17/19 = 90%	17/19 = 90%
9	7	0/15 = 0%	10/15 = 66%	14/15 = 92%	14/15 = 92%
	14	0/10 = 0%	9/10 = 90%	10/10 = 100%	10/10 = 100%
10	14	0/24 = 0%	10/24 = 41%	22/24 = 91%	19/24 = 80%

[1] Teller = aantal knollen, waarin Y^N-virus werd aangetoond
Noemer = totaal aantal knollen.
[1] *Numerator = number of infected tubers detected by test.*
Denominator = total number of tubers tested.

Uit tabel 4 kan, evenals uit tabel 3, geconcludeerd worden dat direct bij het rooien – indien reeds gerooid wordt 14 dagen na inoculatie – meestal geen besmette knollen aangetoond kunnen worden door middel van de bladtoets. Een bewaring van zes weken, nl. vier weken vóór en twee weken na het breken van de kiemrust, heeft het percentage besmette knollen dat onderkend kan worden sterk doen stijgen. Zoals verder uit de tabel blijkt, geeft het gebruik van spruitinoculum in het algemeen betere resultaten dan dat van knolinoculum.

Om het gebruik van spruitinoculum nogmaals aan een onderzoek te onderwerpen, werd in oktober 1960 een vierde proef uitgevoerd, waarbij 27 planten van het ras Bintje 11 weken na het planten met Y^N-virus werden geïnoculeerd. Hiervan werden 13 planten 9 dagen en 14 planten 14 dagen na inoculatie gerooid. Daar de planten reeds vrij oud waren, hadden verschillende ervan reeds vergelend tot afstervend blad. Van de geoogste knollen werd de kiemrust één week na de tweede rooidatum door middel van een rindite-behandeling gebroken. Hierna werden de knollen bij een constante temperatuur van 20 °C bewaard. Drie, vier en acht weken na het breken van de kiemrust werden de knollen op aanwezigheid van Y^N-virus onderzocht door middel van spruittoetsingen, voor zover een spruit van minstens $1^1/_2$ cm lengte aanwezig was. Verder werd nagegaan in hoeverre sap van knollen als inoculum ter onderkenning van het Y^N-virus kon worden gebruikt. Vijf weken na het breken van de kiemrust werden navel- en krooneinden van de knollen op A6-blad getoetst. De toetsingen van de naveleinden mislukten toen. Acht en tien weken na het breken van de kiemrust werden de naveleinden der knollen nogmaals getoetst op aanwezigheid van Y^N-virus.

Vijf weken na het breken van de kiemrust werd van elke knol één spruit in de kas uitgeplant. De uit deze spruiten opgegroeide plantjes werden tien weken na het breken van de kiemrust op de gebruikelijke wijze getoetst. Tenslotte werden alle knollen in een aantal stukken gesneden, gelijk aan het aantal ogen, en in de kas uitgeplant. De uit deze ogen opgegroeide plantjes werden eveneens op aanwezigheid van Y^N-virus getoetst. Door deze toetsing was het mogelijk een verdeling te maken tussen partieel en geheel besmette knollen. Het viel hierbij op dat de planten, die op het moment van inoculatie vergelend tot afstervend blad hadden, knollen produceerden, die partieel besmet waren. Nadat een scheiding was gemaakt tussen geheel en partieel besmette knollen, werden de resultaten nagegaan van de toetsingen, waarbij gekneusde spruiten en aangesneden knollen als inoculum werden gebruikt.

In tabel 5 zijn de resultaten weergegeven van het onderzoek op aanwezigheid van Y^N-virus in de knol, waarbij gekneusde spruiten als inoculum werden gebruikt. Per knol is steeds één spruit getoetst. Van de geheel besmette knollen kon bij de negen dagen na de inoculatie gerooide knollen reeds voor 80 tot 91 % de besmetting worden aangetoond. Van de na 14 dagen gerooide knollen kon de besmetting voor 100% worden achterhaald. Zoals uit de gegevens blijkt, kon de aanwezigheid van het Y^N-virus in partieel besmette knollen slechts voor een gering percentage worden vastgesteld.

TABEL 5. Percentages knollen (ras Bintje), waarin Y^N-virus werd vastgesteld door middel van A6-bladtoets, indien spruitsap als inoculum was gebruikt.
Percentage of infected tubers detected by means of A6-leaf test, using sprout sap as inoculum.

Aantal dagen tussen inoculatie en rooien *Interval in days between inoculation and harvesting*	Aantal weken na het breken van de kiemrust *Number of weeks after breaking dormancy*	Aantal spruiten waarin Y^N-virus werd vastgesteld bij geheel besmette knollen[1] *Number of infected sprouts detected on completely infected tubers*[1]	Aantal spruiten, waarin Y^N-virus werd vastgesteld bij partieel besmette knollen[1] *Number of infected sprouts detected on incompletely infected tubers*[1]
9	3	12/15 = 80%	0/2 = 0%
	4	9/10 = 90%	0/3 = 0%
	8	22/24 = 91%	1/6 = 16%
14	3	11/11 = 100%	1/11 = 9%
	4	15/15 = 100%	3/10 = 30%
	8	17/17 = 100%	5/16 = 31%

[1] Teller = aantal spruiten, waarin Y^N-virus werd aangetoond.
Noemer = totaal aantal spruiten.
[1] *Numerator = number of infected sprouts detected by test.*
Denominator = total number of sprouts tested.

In tabel 6 zijn de resultaten weergegeven van proeven, waarbij aangesneden knollen als inoculum werden gebruikt. Van de geheel besmette knollen kon steeds het hoogste percentage worden aangetoond, als het basale aangesneden deel als inoculum werd gebruikt. Voor de partieel besmette knollen is het verloop in de verkregen gegevens grillig. Vijf en acht weken na het breken van de kiemrust werd met toetsen van het naveleinde het hoogste percentage zieke knollen gevonden, terwijl daarentegen 12 weken na het breken van de kiemrust het toetsen van de krooneinden het hoogste percentage opleverde. Daar

echter in dit geval met kleine aantallen is gewerkt, mag niet te veel waarde worden gehecht aan de resultaten van de partieel besmette knollen.

TABEL 6. Aantal knollen (ras Bintje) waarin het Y^N-virus werd vastgesteld door middel van de A6-bladtoets, waarbij aangesneden knollen als inoculum waren gebruikt.
Number of infected tubers detected by means of A6-leaf test using cut tubers as inoculum.

Aantal dagen tussen inoculatie en rooien *Interval in days between inoculation and harvesting*	Aantal weken na het breken van de kiemrust *Number of weeks after breaking dormancy*				Mate van knolbesmetting *Extent of tuber infection*
	5	8	12	12	
	Krooneinde[1] *Eye end*[1]	Naveleinde[1] *Heel end*[1]	Krooneinde[1] *Eye end*[1]	Naveleinde[1] *Heel end*[1]	
9	30/43 = 70%	38/43 = 88%	15/22 = 68%	25/31 = 80%	geheel *completely*
	2/10 = 20%	6/10 = 60%	1/5 = 20%	0/5 = 0%	partieel *incompletely*
14	11/29 = 40%	26/29 = 90%	13/23 = 56%	17/23 = 74%	geheel *completely*
	2/22 = 9%	7/22 = 30%	4/20 = 20%	2/20 = 10%	partieel *incompletely*

[1] Teller = aantal knollen, waarin Y^N-virus werd aangetoond.
Noemer = totaal aantal knollen.
[1] *Numerator = number of infected tubers detected by test.*
Denominator = total number of tubers tested.

NABESCHOUWING

Uit de proeven blijkt, dat in het algemeen aangesneden aardappelknollen, die nog in de kiemrust verkeren, niet als inoculum voor de bladtoets kunnen worden gebruikt.

Naarmate echter het tijdstip van het rooien later na de inoculatiedatum wordt gekozen, kan op het moment van het rooien een hoger percentage van de besmette knollen door middel van de bladtoets worden vastgesteld. Voor de kasomstandigheden was de tijdsduur tussen inoculeren en rooien, waarbij in ongeveer $^3/_4$ van het aantal besmette knollen het virus kon worden vastgesteld, 42 dagen, niettegenstaande het virus na zeven dagen de knol reeds had bereikt (tabel 4). Het blijkt, dat spruitende, aangesneden knollen – de kiemrust der knollen was kunstmatig gebroken – met goed resultaat als inoculum kunnen worden gebruikt. In hoeverre het breken van de kiemrust hierop een gunstig effect heeft, is niet bekend. MÜNSTER (niet gepubliceerd) heeft evenwel aanwijzingen, dat het breken van de kiemrust door middel van behandeling met rindite de virusconcentratie in de knol aanzienlijk doet stijgen. Volgens de gegevens uit tabel 3 wordt bij vier weken bewaren zonder het breken van de kiemrust ook reeds een hoger percentage besmette knollen door middel van de bladtoets gevonden dan vlak na het rooien. Er dient echter te worden opgemerkt, dat in het laatste geval de proefplanten jonger waren, zodat vergelijking met de resultaten uit tabel 4 niet geheel geoorloofd is.

Het is nog een vraag, wat er tijdens de bewaring en kieming van de knollen gebeurt. Een virusvermeerdering lijkt het meest waarschijnlijk. Het is echter ook denkbaar dat er geen virusvermeerdering plaats heeft, maar een vermin-

dering van de remstof, die door NIENHAUS (1960) kon worden aangetoond. Het effect is in beide gevallen gelijk.

Ook ten aanzien van hetgeen zich gedurende de eerste tijd van de besmetting in de knol afspeelt zijn er nog duistere punten. Aangezien het apicale deel van de knol het jongste en daardoor het actiefste deel is, is het denkbaar, dat het virus in de eerste plaats daarheen wordt getransporteerd en zich daar vermeerdert. Dit zou dan – ook volgens NIENHAUS (mondelinge mededeling) – hoofdzakelijk plaatshebben bij jonge, snel groeiende knollen. Bij oudere knollen, die op een laat tijdstip worden besmet, is de activiteit veel geringer en zal daardoor het virus hoofdzakelijk in het naveleinde van de knol achterblijven en het krooneinde niet meer kunnen bereiken. Deze hypothese kan echter niet worden gestaafd door de verkregen resultaten van de partieel besmette knollen.

Om de virusconcentratie in de verschillende knolgedeelten na te gaan, werd bij vele toetsingen het aantal necrotische kringen geteld, die bij inoculatie op het A6-toetsblad ontstonden. Hoewel deze tellingen geen absolute maat voor de virusconcentratie zijn, kunnen zij wel enige aanwijzing geven. Het aantal necrotische kringen per blad bij gelijk inoculum is nl. bij A6 zeer variabel; een betere toetsplant voor deze tellingen is volgens NIENHAUS (mondelinge mededeling) *Physalis floridana*. Bij de spruittoetsingen was het aantal necrotische kringen op A6-blad, vergeleken met toetsingen van de knol waarvan de kiemrust was gebroken, ongeveer 10 maal zo groot. Bij de toetsingen van de twee uiteinden der knol konden op A6-blad geen grote verschillen in aantallen necrotische kringen worden aangetoond. MÜNSTER (niet gepubliceerd) en NIENHAUS (niet gepubliceerd) vonden bij knollen waarvan de kiemrust was gebroken aan het apicale deel van de knol een hogere virusconcentratie dan aan het basale deel. Beiden hebben echter knollen onderzocht, waarvan nadere gegevens, zoals leeftijd bij infectie en rooidatum na infectie, ontbreken.

In tegenstelling met de bevindingen van NIENHAUS (1961) gaven spruittoetsingen steeds goede overeenstemming met het werkelijk aanwezig zijn van het virus. In hoeverre de verschillen in de rassen van het Duitse en Nederlandse aardappelsortiment hierbij een rol spelen, is nog niet onderzocht.

SAMENVATTING EN CONCLUSIES

Om de mogelijkheid van het gebruik van aangesneden knollen als inoculum voor de bladtoets na te gaan, werd een aantal proeven uitgevoerd met aardappelplanten van de rassen Bintje en Record. Door inoculaties uit te voeren op verschillende tijdstippen na het planten en de geïnoculeerde planten op verschillende data na inoculatie te rooien, werd enig inzicht verkregen in de mogelijkheid van toetsingen van knollen, die op verschillende tijden na inoculatie werden gerooid.

Het blijkt, dat aangesneden, in rust verkerende knollen met de hier beschreven methode niet als inoculum kunnen worden gebruikt, tenzij de planten 30 dagen of later na inoculatie worden gerooid. Vindt het rooien op een vroeger tijdstip na de inoculatie plaats, dan kunnen incidenteel enkele van de besmette knollen met de bladtoets worden gevonden. Indien de toetsing van besmette knollen tenminste één maand na het rooien wordt uitgevoerd, dan kan, indien de planten op het moment van de inoculatie niet te oud zijn geweest, het virus in ongeveer 50% van de besmette knollen worden aangetoond. Wordt echter

de kiemrust der knollen door middel van rindite kunstmatig gebroken en worden de knollen hierna gedurende enige weken bij 20 °C bewaard, dan wordt hetzelfde effect verkregen als bij bewaring onder natuurlijke omstandigheden. Met de rindite-behandeling wordt dit effect echter sneller bereikt. Uit de genoemde proeven blijkt, dat vijf weken na het breken van de kiemrust het virus in ongeveer 90% van de besmette knollen werd gevonden, indien de aangesneden naveleinden van geheel besmette knollen getoetst waren. Partieel besmette knollen geven geen betrouwbare resultaten.

Worden van geheel besmette knollen, waarvan de kiemrust kunstmatig is gebroken, minstens drie weken na het breken van de kiemrust de gekneusde spruiten als inoculum op A6-blad getoetst, dan kunnen 90 tot 100% der besmette knollen worden aangetoond.

Door tellingen van de necrotische kringen op het A6-blad werd voorts geconstateerd, dat de virusconcentratie in spruiten, zowel voor de knollen waarvan de kiemrust op kunstmatige als op natuurlijke wijze is gebroken, steeds hoger is dan de concentratie in het apicale en het basale deel van de knol.

Summary

The possibility of detecting virus Y^N infections in potato tubers by means of A 6 and SdY leaf tests was examined. Infected tubers were obtained by inoculating plants of the varieties Bintje and Record at various intervals after planting and by harvesting at different intervals after inoculation.

It was found that cut dormant tubers cannot be used for testing on detached leaves unless the period between inoculation and harvest is longer than 30 days (tables 1, 2, 3). If testing of the tubers is withheld until they have been in storage for at least one month, it then becomes possible to detect about 50% of the infections (table 4). Successful detection of the infected tubers thus depends largely on the age of the plants at the moment of inoculation and the time interval between inoculation and harvesting. By breaking the dormancy of the tubers artificially with "rindite" and then storing them for some weeks at 20 °C, the same effect can be achieved as when the tubers are allowed to sprout naturally. By means of the "rindite" treatment, however, the desired condition can be obtained much earlier. It is not yet clear whether this increase in detectable virus is due to virus multiplication or to diminishing inhibitor concentration.

Experiments showed that if the heel ends of cut, completely infected tubers are tested five weeks after breaking dormancy, about 90% of the infected tubers can be detected. Partially infected tubers do not give reliable results (table 6).

A higher percentage of the infected tubers can be detected when sap expressed from sprouts is used as inoculum for the A6-leaf test three weeks or more after breaking dormancy (table 5).

It was noticed that the virus concentration in the sprouts of tubers in which dormancy had been broken artificially or naturally was always higher than that in the apical or basal parts of the same tubers.

Literatuur

Bokx, J. A. de, – 1960. Het onderkennen van het „nieuwe" Y-virus (Tabak-Rippenbräune Virus) in aardappel door middel van de bladtoets. I.P.O.-Onderzoekverslag no. 6.

Denny, F. E., – 1945. Synergistic effects of 3 chemicals in the treatment of dormant potato tubers to hasten germination. Contrib. Boyce Thompson Inst. 14: 1–14.

Nienhaus, F., - 1960. Test der Mosaikviren Y, X und A unmittelbar von der Kartoffelknolle. Naturwissenschaften 47: 164–165.

Nienhaus, F., – 1961. Untersuchungen über Infektion, Vermehrung und Nachweis des Kartoffel-Y-Virus in Kartoffelknollen verschiedener Sorten. Proc. 4th Conf. Pot. Virus Dis., Braunschweig, 1960: 99–105.

VERENIGINGSNIEUWS

De najaarsvergadering 1960 werd gehouden te Utrecht op 3 november.

De heer J. KORT sprak over: Fysiologische rassen van het havercysteaaltje (*Heterodera avenae* Woll.) in Nederland.

Naar aanleiding van de mededelingen van ANDERSEN in 1959 over het voorkomen van fysiologische rassen van het aaltje in Denemarken, werd in 1960 onderzocht of deze rassen ook in ons land voorkomen. Hiervoor waren in de loop van de laatste jaren reeds aanwijzingen verkregen.

Er konden vier fysiologische rassen worden aangetoond, elk met een eigen waardplant. Deze fysio's kunnen hetzij afzonderlijk, hetzij in combinaties voorkomen. Alle fysio's tasten zomerrogge aan. Hun voorkomen in ons land is verspreid, al valt in de Veenkoloniën een concentratie van één der fysiologische rassen waar te nemen.

De besproken gegevens hebben voorlopig slechts betekenis voor de resistentieveredeling van granen tegen het aaltje. Eerst wanneer meer gegevens over de plaatselijke situatie in de voornaamste schadegebieden zijn verkregen, kunnen deze wellicht dienstbaar gemaakt worden aan de voorlichting ten aanzien van de te volgen vruchtwisseling.

De heer J. C. ZADOKS sprak over: Enige fytopathologische aspecten van de mengteelt bij granen.

Onder mengteelt van granen wordt in de regel verstaan de gemengde teelt van twee verschillende granen zoals haver en gerst. Hier gaat het echter over mengsels van lijnen en rassen van één graangewas, in casu tarwe. Het idee, om het gevaar van roestepidemieën te beperken door het uitzaaien van lijnenmengsels, stamt van BORLAUG in Mexico. Hij zaaide een aantal lijnen uit, die overeenkwamen in landbouwkundige en morfologische eigenschappen, maar die verschilden in de genetische basis van hun resistentie tegen zwarte roest. Zou een nieuw fysio verschijnen, dan zou dit fysio waarschijnlijk niet meer dan één der lijnen aantasten. De verbreiding van dit fysio zou dan sterk afgeremd worden, doordat de andere nog resistente lijnen van het mengsel als een rem zouden fungeren. Gunstige resultaten worden vermeld zonder opgave van cijfermateriaal.

Nagegaan werd of onder Nederlandse omstandigheden de mengteelt remmend zou werken op de verbreiding van gele roest. Daar geschikte lijnenmengsels ontbraken, werd met rassenmengsels gewerkt. De verkregen cijfers tonen aan dat een rassenmengsel van één vatbaar op één resistent reeds een belangrijke afremming van de gele roest te zien geeft. De geldigheid der conclusies is voorlopig nog beperkt tot wintertarwe en tot jaren met een matige gele-roestepidemie. De verklaring van het verschijnsel der afremming berust in hoofdzaak op de sterk beperkte haardvorming; de resistente planten vormen een scherm om de eerst aangetaste, vatbare planten, zodat de roestsporen de dichtstbijzijnde en nog gezonde vatbare planten moeilijk kunnen bereiken. Het remmende effect van de resistente planten is het sterkst in het begin van de epidemie. Op theoretische gronden wordt aangenomen, dat mengsels van vier tot zes lijnen reeds een afdoende bescherming tegen gele-roestschade zullen geven.

De heer W. C. NIJVELDT sprak over: Biologie, fenologie en bestrijding van de tarwestengelgalmug (*Haplodiplosis equestris* Wagn.).

In de Lijmers en in de gemeente Ubbergen werd in 1958 voor het eerst in de Rijkslandbouwconsulentschappen Doetinchem en Tiel hevige aantasting door de tarwestengelgalmug aan zomertarwe en zomergerst ontdekt. Plaatselijk gaf deze aantasting tot misoogsten aanleiding. Met medewerking van de Rijkslandbouwvoorlichtingsdienst stelt de P.D. thans jaarlijks een onderzoek in naar het voorkomen van deze galmugsoort in ons land. Uit dit onderzoek is gebleken, dat *H. equestris* gevonden is op kleigronden in de provincies Groningen, Gelderland, Noord-Brabant, Limburg, Zeeland en Noord-Holland. Buiten Nederland komt de tarwestengelgalmug in vrijwel geheel Europa voor. In bestrijdingsproeven, die in 1959 en 1960 door de P.D. met medewerking van de Rijkslandbouwvoorlichtingsdienst werden genomen, bleken bespuitingen met DDT en een mengsel van DDT en Parathion gunstige resultaten te hebben afgeworpen. In 1959 werd het I.P.O. belast met het onderzoek naar de biologie en fenologie van de galmug. In 1960 werd dit onderzoek verricht in samenwerking met de P.D., met steun van het Nederlands Graan-Centrum en met medewerking van de Rijkslandbouwvoorlichtingsdienst. Niet alleen de graansoorten tarwe, gerst, rogge en haver zijn als waardplant min of meer geschikt, maar ook verscheidene wilde grassen, waaronder kweek. De eiafzetting vindt in het voorjaar plaats op de bovenste bladeren. De larven kruipen tussen blad-

schede en stengel en verwekken daar zadelvormige gallen aan de buitenkant van de stengel. De volwassen larven verlaten de planten en overwinteren in de grond. De verpopping geschiedt in het volgende voorjaar. Er ontwikkelt zich dus één generatie per jaar. Overliggen van larven is vastgesteld. Bij vochtig weer vormen de gallen een invalspoort voor allerlei ziekteverwekkende schimmels, waardoor uiteindelijk een normale korrelzetting en afrijping worden verhinderd. In 1960 gaf dit op enkele percelen zomertarwe een verlies aan duizendkorrelgewicht van 0,5 tot 30%; bij zomergerst varieerde dit verlies van 1,5 tot 20,3% en bij wintergerst van 1 tot 12,6%. Kwaliteitsverlies trad vrijwel niet op, daar de aangetaste korrels met een eenvoudige windschoning uit het produkt konden worden verwijderd, waarvoor een korting van f. 0,50 per kg werd aangebracht. De vluchtperiode van de galmug werd geregistreerd met behulp van vangkegels en vangbakken. Het hoogtepunt van de vlucht kwam in 1960 ongeveer een maand na het begin.

Door middel van grondmonsters werden gegevens verzameld inzake de in de grond aanwezige larvenpopulatie, het verspreidingsgebied, de overwinteringsdiepte, het tijdstip van de verpopping en de invloed van de grondsoort en het geteelde gewas op de opbouw van de populatie. Het is moeilijk om een prognose te geven inzake de te verwachten economische gevolgen van een bepaalde grondbesmetting, daar de aangerichte schade sterk afhankelijk is van de weersomstandigheden (droog of vochtig weer). Het staat echter wel vast dat het enorme aantal larven dat zich in de aangetaste gebieden soms in de grond bevindt (50.000 per m^3) vooral voor de teelt van zomergranen als een potentieel gevaar moet worden beschouwd. Wintergranen zijn ten tijde van de galmugvlucht het gevoelige stadium meestal te boven.

Dr. J. C. Zadoks, *secretaris*

BOEKBESPREKING

M. G. Warffemius, Lagere planten en planteziekten in de tuinbouw, E.L.T.O.-serie No. 9, vierde druk, 1959. Uitg. P. Noordhoff N.V., Groningen, 97 blz. Prijs f 2,50.

Aan een elementair leerboekje mag als eerste eis worden gesteld dat de leerstof in zijn eenvoudigste vorm zo duidelijk mogelijk wordt behandeld. Dit geldt in het bijzonder indien, zoals in dit boekje het geval is, dikwijls een beroep op het voorstellingsvermogen van de leerlingen wordt gedaan. Op de mate waarin aan deze eis wordt voldaan, kunnen, vooral wat betreft de biologie van de schimmels, verscheidene aanmerkingen worden gemaakt.

Verder zal het feit dat in het hoofdstuk over de bestrijding de carbamaten niet worden behandeld, terwijl hun gebruik in het hoofdstuk over de afzonderlijke ziekten herhaaldelijk wordt aanbevolen, de lezers voor vragen stellen. Onjuist is het noemen van slechts één merknaam van middelen waarvan meer fabrikaten in de handel zijn.

Daar de opzet van het boekje goed is, is het jammer dat van de drie herdrukken geen beter gebruik is gemaakt om de tekst te verbeteren.

Om het boekje zijn bestaansrecht te doen behouden, is het nodig dat het bij een volgende herdruk drastisch wordt herzien.

A. P. K.

Twaalfde Internationaal Symposium over Fytofarmacie en Fytiatrie, 26 april 1960, Rijkslandbouwhogeschool Gent. Overdruk uit Mededelingen van de Landbouwhogeschool en de Opzoekingsstations van de Staat te Gent, 1960, deel XXV, No. 3–4, blz. 981–1563.

Het werk bevat de verslagen van 60 te Gent gehouden voordrachten over uiteenlopende onderwerpen op planteziektenkundig gebied, o.a. met betrekking tot de nematologie, de mycologie, de entomologie, de virologie, het onderzoek over groeistoffen, het onderzoek over bestrijdingsmiddelen en de onkruidbestrijding. De verslagen zijn gepubliceerd in het Nederlands, Frans, Engels en Duits; ze bevatten als regel één of meer samenvattingen, veelal in een andere taal dan het oorspronkelijke stuk. Meestal is ook een literatuurlijst toegevoegd en in sommige gevallen is de discussie gepubliceerd. Vele tabellen en figuren, vooral grafische voorstellingen, zijn in de tekst opgenomen.

E.

T. Pl.-ziekten 67 (1961): 445 – 548

SEASONAL FLUCTUATIONS OF POPULATION DENSITY OF THE CABBAGE APHID, *BREVICORYNE BRASSICAE* (L.), IN THE NETHERLANDS, AND THE ROLE OF ITS PARASITE, *APHIDIUS (DIAERETIELLA) RAPAE* (CURTIS)[1]

Met een samenvatting:

Seizoenschommelingen in de populatiedichtheid van de koolbladluis, *Brevicoryne brassicae* (L.), in Nederland en de rol van haar parasiet, *Aphidius (Diaeretiella) rapae* (Curtis)

BY

MOSTAFA HAFEZ

B.Sc. (Agr.), M.Sc. (Ent.) Cairo University

CONTENTS

CHAPTER I

INTRODUCTION 449

CHAPTER II

SEASONAL HISTORY AND REPRODUCTIVE POTENTIAL OF THE CABBAGE APHID, *BREVICORYNE BRASSICAE* (L.) 450

1. INTRODUCTION 450
2. SEASONAL HISTORY 450
   A. Hibernation 450
   B. Early generations of *B. brassicae* on the overwintering plants 451
   C. Infestation of the new crops 451
3. SOME QUANTITATIVE DATA ON THE SEASONAL HISTORY OF *B. brassicae* IN THE NETHERLANDS 453
   A. Number of eggs per brussels sprout plant 453
   B. Period and percentage of egg hatching 454
   C. Number of generations per year 455
   D. Effect of temperature on the rate of development 456
4. FECUNDITY 459
   A. Material and method 460
   B. Results 461

CHAPTER III

SEASONAL COURSE OF ABUNDANCE OF *BREVICORYNE BRASSICAE* (L.) IN THE FIELD 465

1. INTRODUCTION 465

[1] Accepted for publication 1 Nov., 1961.

2. Population changes of *B. brassicae* in the field in 1959 and 1960 467
A. Material 467
B. Sampling and counting 468
C. Results 470

CHAPTER IV

ANALYSIS OF THE SEASONAL FLUCTUATIONS IN POPULATION DENSITY OF *BREVICORYNE BRASSICAE* (L.) 474

1. Introduction 474
2. Literature 474
3. The effect of mortality factors 475
A. The effect of abiotic factors 476
1. Temperature 477
2. Precipitation 480
B. The effect of biotic factors 482
1. Entomophagous fungi 482
2. Predators 482
a. Coccinellids 482
b. Syrphids 483
c. *Phaenobremia aphidovora* Rübs. 483
d. Larvae of the family Chrysopidae 483
3. Parasites 483
4. Discussion 483

CHAPTER V

THE BIONOMICS OF THE PARASITE *APHIDIUS (DIAERETIELLA) RAPAE* (Curtis) 485

1. Introduction 485
2. Taxonomy and nomenclature 486
3. Geographical distribution 487
4. Host range 487
5. Life history 489
A. Development of the parasite 489
B. Sex ratio 490
C. Longevity 491
D. Fecundity 491
6. Seasonal history 493
A. Hibernation 493
B. Emergence of hibernating parasites 495
C. Number of generations per year 496
D. Effect of temperature on the rate of development 496

CHAPTER VI

HOST-PARASITE INTERRELATIONS 499

1. Oviposition 499
A. Preoviposition period 499
B. Behaviour during oviposition 500
C. Number of eggs per insertion of ovipositor 502
2. Host preference 502
A. Discrimination between parasitized and non-parasitized hosts 502
B. Preference of the parasite to different stages of the host 506
1. Method 506
2. Results and discussion 506

3. Effect of parasitism in different stages of host on both host and parasite . . . 509
A. Methods . . . 509
B. Results and discussion . . . 510
1. Effects on the host . . . 510
2. Effects on the parasite . . . 514
4. Effect of parasitism on alate formation . . . 516
5. Effect of host density on rate of parasitism . . . 518
A. Methods . . . 518
B. Results and discussion . . . 519

CHAPTER VII

HOST-PARASITE INTERACTIONS IN THE FIELD . . . 521

1. Parasitism during the season . . . 522
A. Estimation of parasitism by dissection of nymphs . . . 522
1. Method . . . 522
2. Results and discussion . . . 522
B. Estimation of parasitism by counting the proportion of mummies . . . 524
1. Method . . . 524
2. Results and discussion . . . 525
C. Role of parasitism as a mortality factor of the cabbage aphid . . . 527
2. Parasitism on the overwintered plants early in the season . . . 527
A. Rate of parasitism early in the season . . . 527
B. Economic importance of the early parasitism . . . 529

CHAPTER VIII

HYPERPARASITES AS MORTALITY FACTORS OF *A. RAPAE*. . . . 529

1. Introduction and historical review . . . 529
2. Species of the hyperparasites of *B. brassicae* in the Netherlands . . . 530
A. *Charips ancylocera* Cam. . . . 531
B. *Asaphes vulgaris* Wlk. and *Pachyneuron minutissimum* Fö. . . . 531
C. *Lygocerus aphidovorus* K. . . . 531
3. Emergence of primary parasites and hyperparasites from mummies of *B. brassicae* collected in the field in 1959 and 1960 . . . 531
4. Emergence of primary parasites and hyperparasites early in the season . . . 533

CHAPTER IX

FACTORS LIMITING THE EFFECT OF *APHIDIUS RAPAE* CURT. AS A CONTROLLING AGENT OF *BREVICORYNE BRASSICAE* (L.) . . . 535

SUMMARY . . . 537

SAMENVATTING . . . 540

ACKNOWLEDGMENTS . . . 545

REFERENCES . . . 546

CHAPTER I

INTRODUCTION

In The Netherlands, as in most other countries, the cabbage aphid, *Brevicoryne brassicae* (L.), is one of the most important pests of cruciferous crops. Insecticides are in general use to control the pest. However, several serious problems arose from the extensive application of the insecticides which lead to drastic changes of certain environmental components. One of these problems is the rapid resurgence of the pest after treatment, which demands more frequent application of insecticides. This was demonstrated in The Netherlands by DE FLUITER (1959) who applied several organic phosphorous insecticides for the control of *B. brassicae*. He showed that these insecticides caused a sharp drop in aphid abundance in comparison to the non-treated plots. However, in most cases the infestation started again within few days and gradually increased while it remained more or less steady in the non-treated plots. This phenomenon may be partly explained by assuming that a high mortality occurred among the natural enemies, due to the application of insecticides.

These results showed that insecticides should not be applied haphazardly. Extensive studies should be carried out beforehand to find out, among other things, (1) the level around which the population densities of *B. brassicae* are naturally regulated and (2) the role played by natural mortality factors in the process of regulation. In this way it would be possible to know when and how a man-made mortality factor, such as application of insecticides, should be introduced to achieve the best economic results without disturbing the natural mechanism of regulation.

On the background of this effect of insecticides on populations of *B. brassicae*, the present work was initiated. The work was conducted during the years 1959, 1960 and part of 1961. The scope of the study was to contribute towards a better knowledge of:

1. The natural population densities of the cabbage aphid, *Brevicoryne brassicae* (L.) in The Netherlands.
2. The influence of the parasite *Aphidius (Diaeretiella) rapae* (Curtis) on the densities of the aphid.

Another main point worked out in this paper is the seasonal change in population density of the cabbage aphid. It has been demonstrated in this area of the world that in nature, populations of different species of the aphids follow a more or less particular trend in their seasonal changes. In most cases this trend has only been qualitatively described and it has been shown that on the whole aphid populations start to develop in the spring and gradually increase to reach a peak of abundance in early summer. A mid-season breakdown of the population follows and leads to a sharp decline in aphid abundance. Though the cabbage aphid is economically one of the most important aphids in Western Europe, the seasonal trend of its population densities has not been followed in detail. As will be shown in chapter III a mid-season decline in its abundance occurs. Hence it is thought that the present study may contribute to the more general problem of the mid-season breakdown of aphid populations.

CHAPTER II

SEASONAL HISTORY AND REPRODUCTIVE POTENTIAL OF THE CABBAGE APHID, *BREVICORYNE BRASSICAE* (L.)

1. INTRODUCTION

The cabbage aphid, *Brevicoryne brassicae* (L.) was reported as early as 1734 by FRISCH in Germany (ESSIG, 1948). A considerable proportion of the literature dealing with it is mainly concerned with its geographical distribution, host plants, economic injury to the cruciferous crops, bionomics, and studies of its chemical control. Some of the important investigations on the cabbage aphid are reviewed here.

HERRICK & HUNGATE (1911) studied the biology of the aphid in New York State. PETHERBRIDGE & WRIGHT (1938) reported on its seasonal history in England. ELZE (1944) described briefly the biology of the aphid in Palestine based on the results of rearings of five independent series of generations between November and July. ESSIG (1948) stated that its hosts belong almost entirely to the family Cruciferae and listed 51 species or varieties as hosts. BONNEMAISON (1951) carried out an extensive study of the factors which affect the appearance of alate and sexual forms of *B. brassicae* and studied the morphology and biology of the different instars and forms. MARKKULA (1953) thoroughly studied the aphid in South Finland. He worked out its bionomics and seasonal history and tested the suitability of several host plants. BODENHEIMER & SWIRSKI (1957) reported on the Aphidoidea of the Middle East and compiled the synonyms, biology, phenology, and ecology of the cabbage aphid.

Since the present study is mainly concerned with the population dynamics of the cabbage aphid, some elements of its bionomics and seasonal history are given in this chapter together with some quantitative data on its reproductive potential in the two years of observation.

2. SEASONAL HISTORY

A. Hibernation

It has been established that the production of sexuparae and sexuales depends on the combined action of photoperiod and temperature (BONNEMAISON, 1951; KENNEDY & STROYAN, 1959; LEES, 1959). Consequently overwintering of *B. brassicae* in different areas of the world ranges from exclusively as winter eggs to exclusively as virginoparae (table 1).

In The Netherlands, during the three winters 1958–1959, 1959–1960, and 1960–1961, the present writer examined a considerable number of brussels sprout plants kept for seed in the area of Wageningen, but did not encounter any of the active stages of the cabbage aphid. Only overwintering eggs were found.

Another main site of winter eggs is the large fields of Colza, *Brassica napus* L., which is planted in autumn, overwinters in the fields and is harvested the following summer. In years with favourable conditions for a heavy autumn infestation such as 1959, enormous numbers of winter eggs are deposited on the plants and a heavy infestation ensued the following spring. Late in June and early in July 1960 the vast fields of Colza in Flevoland and N.E. Polder were

TABLE 1. Overwintering of *Brevicoryne brassicae* (L.) in different areas of the world

Author	Locality	Condition of overwintering *B. brassicae*
MARKKULA (1953)	Finland	Exclusively as eggs
PETHERBRIDGE & WRIGHT (1938)	England	Normally as eggs, but small colonies of virginoparae may survive mild winters
VAN HOOF (1954).	Netherlands (North Holland)	Only as eggs
Personal observations of the present writer between 1959–1961 .	Netherlands (Wageningen district)	Only as eggs
BONNEMAISON (1951)	France (near Paris)	Mainly as virginoparae, but with small proportion of sexuales and eggs
BODENHEIMER & SWIRSKI (1957)	Israel	Exclusively as virginoparae
Personal observations of the present writer	Egypt (U.A.R.)	Exclusively as virginoparae

inspected; they proved to be heavily infested with the cabbage aphid. Owing to the effect of grouping of the aphids and ageing of the plants, at that date almost all the aphids were alatae. These eventually flew off the plants and were a very serious source of infestation for the newly cultivated cruciferous crops.

B. Early generations of B. brassicae on the overwintering plants

As will be shown later in this chapter, the average number of winter eggs per brussels sprout plant in the experimental field near Wageningen was about 5644 in the winter 1959–1960. Since about 70% of these eggs hatched, the apparent initial number of fundatrices could be placed at about 4000 per plant. The actual number, however, was far below this value; field observations showed that a large proportion of the newly hatched fundatrices failed to survive. Frequently they were found dead within a few millimeters from the empty egg shells. This high mortality may be attributed to the type of weather that prevailed in the spring of 1960 (fig. 1). During this period alternating spells of rather high temperature, up to a maximum of 19 °C, which stimulated the hatching of the eggs were followed by low temperatures, down to a minimum of −6 °C, which killed most of the young fundatrices.

In the beginning, the hatching fundatrices congregated mainly on the leaflets of the sprouts and then they moved towards the new growth of the flower stalks which coincided with the hatching period. By the time the new brussels sprout fields were planted, about six generations of *B. brassicae* had already developed on the old overwintered plants, and by the end of that period almost all the seed stalks were literally covered with aphids. Owing to the effect of grouping of the aphids and the drying and ageing of the flower stalks, the great majority of the larvae developed into alatae which dispersed to the newly planted fields. The observations support the idea that the seed plants are the main source of infestation for the new crops (VAN HOOF, 1954).

C. Infestation of the new crops

Once the alate adults dispersed from the old overwintered plants and settled down on the new ones, they started to form colonies and caused the infestation for the new season. The intensity of this infestation and the increase in popu-

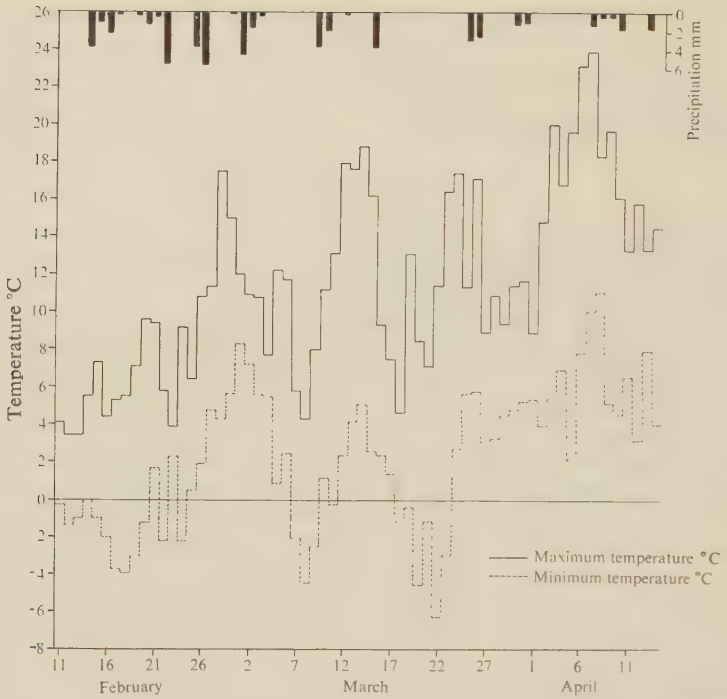


FIG. 1. Maximum and minimum daily temperature °C at 10 cm above soil level and precipitation in early 1960. (Data obtained from the meteorological station near the experimental fields near Wageningen)

lation density during the main part of the season will be dealt with in CHAPTER III. Later in the season, owing to low temperature and a short photoperiod, the sexual forms appeared. In the brussels sprout fields sampled near Wageningen, the first winter egg of *B. brassicae* was found in 1960 on September 15 while in 1959 it was found on September 4.

Late in the season the ratio of sexual females to viviparous females (alate and apterous) gradually increased. The last counts made in 1959 and 1960 showed the ratios given in table 2.

TABLE 2. Ratio of oviparous to viviparous females late in the season

Field and crop	Date	Average number of adult females of *B. brassicae* per plant			Percentage of sexual females to total of all females
		Apterous viviparae	Alate viviparae	Oviparae	
Brussels sprouts, field A, Wageningen	10-XI-'59	20	10	1230	97.6%
Brussels sprouts, field B, Wageningen	20-XI-'59	35	1	384	91.4%
Brussels sprouts, field C, Wageningen	27-X -'60	0	0	4	100 %

3. SOME QUANTITATIVE DATA ON THE SEASONAL HISTORY OF *B. brassicae* IN THE NETHERLANDS

A. Number of eggs per brussels sprout plant

Since the number of winter eggs per plant depends on the degree of aphid infestation in the previous autumn and early winter, it varies from year to year.

In order to determine the number of eggs of *B. brassicae* per sprout plant, in each of the two winters 1959–1960 and 1960–1961, a number of overwintering sprout plants, which were kept for seed production, were taken at random from the experimental field near Wageningen. The eggs present on the leaves, the sprouts, and the stalk of each of the plants were counted. The counts were made in winter time before any hatching took place. The results obtained during the winter 1959–'60 are shown in table 3.

TABLE 3. Number of overwintering eggs of *B. brassicae* on brussels sprout plants in 1959–1960

Plant number	Number of eggs per plant			
	Leaves	Sprouts	Stalk	Total
1	958	1834	324	3116
2	1299	4331	597	6227
3	2534	2848	2679	8061
4	1421	3182	942	5545
5	1744	1739	2286	5769
6	1319	6486	950	8755
7	1287	893	702	2882
8	905	2993	901	4799
Total	11467	24306	9381	45154
Mean number of eggs per plant	1433	3038	1173	**5644**

These results show the following:

1. In the year 1959, which was characterized by a very heavy infestation of *B. brassicae* late in the season, the number of overwintering eggs per sprout plant averaged 5644 with a minimum of 2882 and a maximum of 8755 eggs per plant.

2. More eggs were deposited on the sprouts. An average of 53.8% was found on the sprouts while an average of 25.4% was on the leaves and 20.8% on the stalk.

This distribution is of practical importance, owing to the fact that by the time the eggs start to hatch, the sprouts would be removed from the field for marketing. A good proportion of the leaves would be aged and shed. Most of the eggs or the hatching fundatrices they carry would probably perish. In practice, it is probable that the fraction of the eggs deposited on the stalks, being about 20% of the total, forms the main source of infestation for the new season.

In the year 1960 which had an extremely light infestation late in the season, 25 sprout plants were sampled. The average number of eggs per sprout plant was only 2.3 with a minimum of zero and a maximum of 25 eggs per plant. All the eggs were found on the sprouts.

B. Period and percentage of egg hatching

The period of hatching and the percentage of eggs that hatch vary from year to year and from place to place, depending on the conditions prevailing during the winter and early spring.

In 1959, one hundred eggs of *B. brassicae* were marked on overwintering sprout plants in the field near Wageningen. They were examined once every week starting 3-II-'59 till 20-IV-'59. Due to a lack of sufficient plants in the field, the initial number of eggs was too small to draw generalized conclusions. However, it was found that no eggs hatched until 2-III-'59. The first eggs were found hatched on 9-III-'59 and the last on 13-IV-'59. Most of the hatching of eggs took place late in March and early in April. Sixty percent of the eggs shrivelled and only 40% gave rise to fundatrices.

In the autumn of 1959 the infestation of *B. brassicae* was very high and resulted in a large number of eggs on the overwintering sprout plants (table 3). Every week, starting 11-II-'60, a large number of eggs varying between 2211 and 3272 was taken at random from the sprouts, the leaves and the stalks of the sprout plants and classified into sound, shrivelled and hatched eggs. This inspection continued until 14-IV-'60 when only 0.1% of the inspected eggs were still apparently healthy. The results obtained are shown in table 4 and fig. 2.

TABLE 4. Hatching of winter eggs early in 1960

Date	Total number of eggs inspected	Condition of eggs (in %)		
		Sound eggs	Shrivelled eggs	Hatched eggs
11- II-'60	3272	88.6	11.4	0
18- II-'60	2750	90.0	10.0	0
25- II-'60	3004	88.4	11.6	0
3-III-'60	2688	81.2	15.0	3.8
10-III-'60	3069	78.3	17.7	4.0
17-III-'60	2421	44.2	28.9	26.9
24-III-'60	3072	30.7	26.9	42.4
31-III-'60	2648	10.1	24.9	65.0
7-IV-'60	2211	2.3	27.8	69.9
14-IV-'60	2519	0.1	29.6	70.3

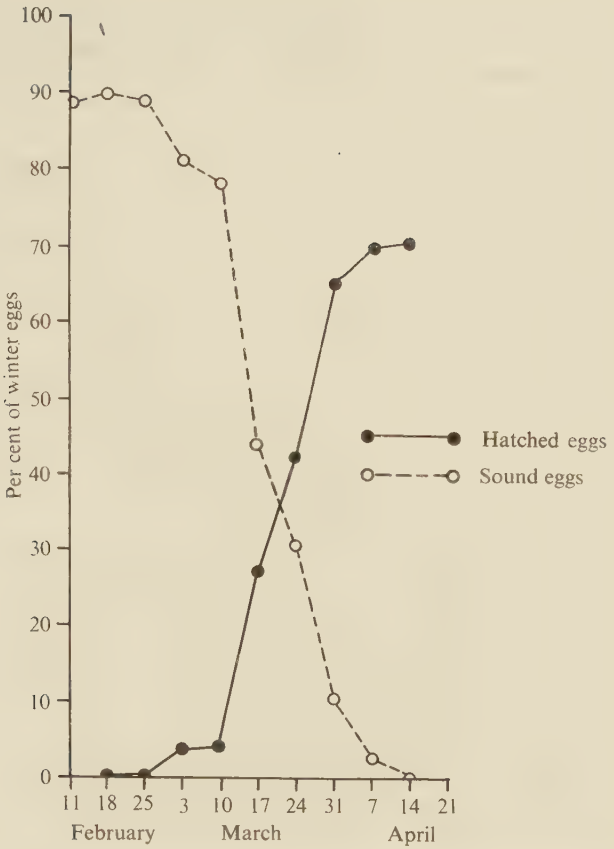
From the few observations made in 1959 and the more extensive data of 1960 the following conclusions can be drawn:

1. In 1959 the first eggs hatched some time between 2-III-'59 and 9-III-'59 and the last around the middle of April. Out of 100 eggs observed only 40% hatched whereas the remaining 60% shrivelled and gave no fundatrices.

2. In 1960 the first eggs hatched about one week earlier; between 25-II-'60 and 3-III-'60 and the last about the middle of April. By that date about 70% of the eggs were hatched while the remaining 30% had collapsed and failed to hatch. About 87% of the eggs which hatched did so in the last three weeks of March. The significance of this fact will be discussed in CHAPTER VII in relation to the role of parasitism in the control of the populations of the cabbage aphid in spring.

3. From the eggs which failed to hatch, 30% in 1960, only 11% had collapsed by the end of February and about 18% by the tenth of March. This ratio sud-

FIG. 2.
Hatching of winter eggs of *B. brassicae* early in 1960



denly increased during the week of 10 to 17-III-'60 from about 18% to about 29%. The last inspection made at the middle of April showed that 29.6% of the eggs had shrivelled.

C. Number of generations per year

In *B. brassicae*, as in most other aphids, the generations inevitably overlap right from the beginning. This is due to a considerably shorter developmental period as compared with a rather long reproductive period. This means that the early born nymphs complete their development and start depositing nymphs of a new generation while their own mothers are still reproducing. This leads to the fact that, whether in the field or in the laboratory, all stages of the aphids will be found in the colonies within a rather short time after the initial infestation has taken place. It is therefore impossible to speak about definite separated generations in *B. brassicae*.

However, to get an idea about the number of generations per year in The Netherlands, a group of nymphs born on one particular day were reared on potted cauliflower plants in cages (plate 1, A) in an open outdoor insectary. Two series of generations were followed until winter when the generations

ended through the development of oviparous females which deposited winter eggs. Series A, which represented the maximum number of generations, consisted always of the first born nymphs, reared until they deposited their first progeny. Series B, which represented the minimum number of generations, consisted of nymphs, reared until they developed into adults; these adults were allowed to deposit their nymphs until the day on which the last nymph was deposited. This day marked the end of the generation. A new generation was then started with the newly born nymphs. In this way, starting on 2-IV-'59 and on 17-III-'60, the maximum and minimum number of generations were determined. The results are shown in tables 5 and 6.

These results show that in The Netherlands a maximum of 14 generations of *B. brassicae* and a minimum of 3–4 generations occurred in 1959 and 1960. These figures, however, represent the ultimate extreme cases by taking always on one hand the very first reproducing adult and on the other hand the very last nymph produced by the very last producing adult. Judging from the observations taken from the normal breeding, so excluding the extreme individuals and taking only the more representative middle groups, it could be stated that, for all practical purposes, the number of generations of *B. brassicae* in The Netherlands ranges between 6 and 11 per year.

In 1959 the rate of development was highest in August, when it took 10 days for one generation to develop, whereas in 1960 the maximum rate occurred in June, when a generation developed in 8 days. Longer durations prevailed earlier and later in the seasons so that in the period under investigation in 1959 the longest duration of a generation was 27 days in April and 56 days in October and November. In 1960 it was 31 days in March and April and 37 days in October and November. The length of the reproduction period of the individual, which is in fact the main factor responsible for the overlapping of generations, is also affected by seasonal conditions. It ranged from a maximum of 29 days in the middle of the season to a maximum of 44 days at the end.

D. Effect of temperature on the rate of development

It has been shown in the previous section that the duration of the generations varied in the different periods of the season. As temperature is believed to be one of the most important factors responsible for this variation, an experiment was carried out to determine the extent of its effect.

Ten newly-born nymphs were placed on each of a cut cauliflower leaf inserted into a small glass vial filled with water and stoppered with a plug of cotton wool. Each leaf was placed in a glass dish covered with cheese cloth (plate 1, B). The vial and the leaf were laid flat on a filter paper covering the bottom of the dish. Leaves were changed every other day while the water in the vials was replaced daily. Five of such dishes were put in each of seven chambers of a serial thermal cabinet. When the cauliflower leaves were changed the nymphs were carefully transferred from the old leaf to the new one. The nymphs of chambers 3, 4, 5, 6 and 7 (with a lowest temperature of 10° C) had been deposited by their mothers inside these chambers. The nymphs of chambers 1 and 2 (average temperature about 5° C) had been deposited at room temperature and a few hours later they were placed in the dishes in their respective chambers. A photoperiod of sixteen hours was used in all cases. The results are shown in table 7 and fig. 3.

TABLE 5. Maximum and minimum number of generations of *B. brassicae* (1959)

Generation number	Series A: Maximum number of generations				Series B: Minimum number of generations			
	Date		Duration of generation in days	Remarks	Date			Duration of generations in days (longest developmental period + longest depositing period)
	Mother born	First nymph of following generation born			Mother born	Last aptera of following generation giving birth to		
						First nymph	Last nymph	
1	2-IV	29-IV	27		2-IV	10-V	20-VI	38 + 41 = 79
2	29-IV	14-V	15		20-VI	9-VII	7-VIII	19 + 29 = 48
3	14-V	30-V	16		7-VIII	22-VIII	30-IX	15 + 39 = 54
4	30-V	13-VI	14		30-IX	1-XII[2])		62
5	13-VI	27-VI	14					
6	27-VI	10-VII	13					
7	10-VII	23-VII	13					
8	23-VII	4-VIII	12					
9	4-VIII	14-VIII	10					
10	14-VIII	24-VIII	10					
11	24-VIII	5-IX	12					
12	5-IX	18-IX	13	some sexuales				
13	18-IX	7-X	19	mostly sexuales				
14	7-X	2-XII[1])	56	all sexuales				

[1]) This date marked the first nymph to moult into adult because they were all sexuales, so no nymphs were further deposited.
[2]) This date marked the last nymph to moult into adult, they were all sexuales so no nymphs were deposited.

TABLE 6. Maximum and minimum number of generations of *B. brassicae* (1960)

Generation number	Series A: Maximum number of generations				Series B: Minimum number of generations			
	Date		Duration of generation in days	Remarks	Date			Duration of generations in days (longest developmental period + longest depositing period)
	Mother born	First nymph of following generation born			Mother born	Last aptera of following generation giving birth to		
						First nymph	Last nymph	
1	17-III	17-IV	31		17-III	30-IV	7-VI	44 + 38 = 82
2	17-IV	11-V	24		7-VI	21-VI	20-VII	14 + 29 = 43
3	11-V	27-V	16		20-VII	7-VIII	20-IX	18 + 44 = 62
4	27-V	9-VI	13		20-IX	27-IX	all breeding died out	
5	9-VI	17-VI	8					
6	17-VI	28-VI	11					
7	28-VI	12-VII	14					
8	12-VII	25-VII	13					
9	25-VII	5-VIII	11					
10	5-VIII	19-VIII	14					
11	19-VIII	5-IX	17					
12	5-IX	24-IX	19	some sexuales				
13	24-IX	21-X	27	mostly sexuales				
14	21-X	27-XI	37	nearly all sexuales				

TABLE 7. Effect of different temperatures on rate of development of *B. brassicae*

Chamber number	Temperature in °C			Duration in days						
				Development from newly born nymph to newly moulted adult		Pre-larviposition period		Total duration of generation from first nymph till first nymph in the next generation		
	Max.	Min.	Aver.	Max.	Min.	Max.	Min.	Max.	Min.	Aver.
1	6	3.5	4.9	All died, in the first nymphal instar, within 10 days.						
2	9	2	5.5	All died before moulting to adult. The last one died in the fourth nymphal instar after 29 days in that instar.						
3	16	10	13.1	36	26	7	5	43	31	37
4	21	15.5	17.8	16	9	4	2	20	11	16.5
5	26.5	19	23.2	13	8	1	1	14	9	11
6	32	24	28.2	11	8	–[1]	–	11	8	10
7	34.5	27	30.9	13	10	–	–	13	10	11.5[2]

[1]) It took only a few hours for the newly moulted adults to start depositing nymphs.
[2]) All but two of the fifty nymphs died before reaching maturity.

This experiment shows that temperature significantly affected the duration of a generation of *B. brassicae*. At low temperatures, a complete generation could not develop due to the fact that all first instar nymphs died. At a mean temperature of 5.5 °C, some of the nymphs survived till the fourth instar, but none of them reached maturity.

With an increase of the average temperature, generations were completed. At an apparent optimum range of temperature of about 28 °C, the duration of a generation was at a minimum (fig. 3). When the temperature increased still further, the few surviving individuals showed a slightly prolonged development, 11.5 days at a mean temperature of 30.9 °C. At this high temperature only two adults were finally obtained from an initial number of 50 first instar nymphs, while most nymphs died in the first instar. On the whole, under the conditions applied in this experiment, the shortest duration of a generation was 8 days whereas the maximum duration was 43 days.

From this experiment and from the results of field and laboratory observations in 1959 and 1960, it can safely be concluded that the above mentioned values (8–43 days) represent the actual extreme limits for *B. brassicae* in The Netherlands.

Temperature is therefore a very important factor affecting population growth in the cabbage aphid.

4. FECUNDITY

An essential factor determining the rate of growth of an insect population is the reproductive potential. Investigations on this factor in aphids are more complicated than in most other insects because of the presence, almost throughout the season, of two different types of adult females, *viz.* apterous and alate virginoparae with different potentials. Furthermore, a third type, the sexual oviparous females, appears later in the season.

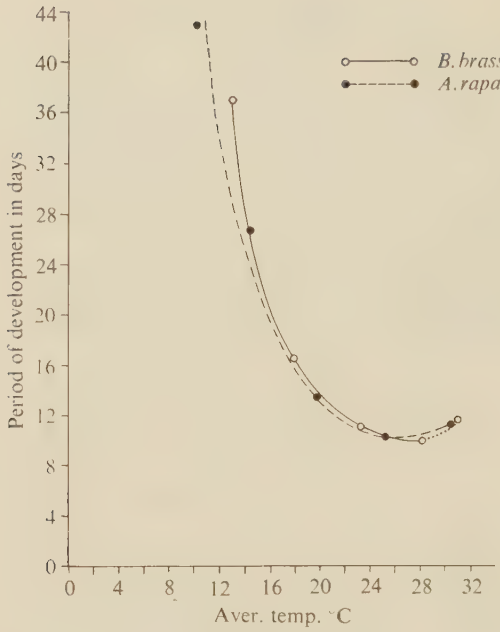


FIG. 3.
Effect of temperature on rate of development of *B. brassicae* and *A. rapae* (from newly born nymph to adult *B. brassicae*, and from egg to adult *A. rapae*)

The fecundity of females of *B. brassicae* has been studied in different parts of the world and the results were different (HERRICK & HUNGATE, 1911; ELZE, 1944; BROADBENT, 1949; BONNEMAISON, 1951; MARKKULA, 1953). So far the fecundity of the cabbage aphid has not been studied in The Netherlands. It is believed, however, that data on the fecundity of viviparous adults under local conditions are essential in studies of the population dynamics of the aphid.

A. Material and method

Several groups of apterous and alate virginoparae were secured in various periods of the season 1959 and 1960 by isolating last instar nymphs individually in glass dishes. The newly moulted adults were reared, also individually, either on leaves of brussels sprouts or cauliflower in glass dishes or in lamp glasses. The glass dish (plate 1, B) and the method of providing and changing the plant leaf is the same as has been described earlier (p. 456).

Lamp glasses (plate 2, A) were more convenient for the leaves of the brussels sprouts. A piece of cotton wool was wrapped around the upper part of the leaf petiole to fit it into the neck of a 25 cc Erlenmeyer flask. The petiole was then inserted into the flask which was filled with water. The leaf was provided with a rather stiff paper collar to prevent the aphid from falling off and failing to crawl back onto the leaf. The flask was placed on a petri dish covered with a filter paper disc and the whole "set-up" was covered with a lamp glass closed at the top with cheese cloth. Twice a week the water in the flasks was replaced and a slice of the petiole was cut off to promote water uptake. In this way it was possible to change the leaves at longer intervals than in the glass dish method.

BONNEMAISON (1951), rearing *B. brassicae* on such cut leaves dipped in water, stated that the aphids developed in an excellent way. Their fecundity was generally superior to those reared on potted plants. The use of several nutritive solutions instead of water did not keep the leaves in better condition.

In the present work, it was observed that, though the aphids were very carefully transferred from their original host plants to the leaves, some of them did not readily settle down on the new hosts. This led to an abnormally high initial mortality which occurred in the first few days. Therefore, aphids which died within less than one week, were considered as dying prematurely and were excluded from the experimental data. Each unit was inspected daily throughout the life of the adults and the nymphs deposited daily were recorded and removed.

B. Results

The results of these series of experiments are summarized in table 8.

Three important values can be obtained from these results, *viz.*:

1. The average total number of nymphs deposited per female.
2. The average longevity of the female.
3. The average number of nymphs deposited per female per day.

Still another important characteristic of *B. brassicae* could be obtained from these series of experiments, *viz.* the daily rate of reproduction per female throughout its life (fig. 4 and 5).

The results of these series of experiments can be summarized as follows:

1. The apterous virginoparae deposit more nymphs than the alate ones. Under the various experimental conditions involved, the number of nymphs deposited per apterous female varied between about 26 and 29. These numbers agree with the averages obtained in some previous studies (ELZE, 1944; MARKKULA, 1953) but they are lower than the numbers given by other authors, especially BONNEMAISON (1951) who obtained considerably higher numbers. He also used cut leaves, but he worked under more optimum conditions either by using constant temperatures (17 °C or 24 °C) or by alternating these same temperatures daily. In the latter case he obtained the highest averages ranging from 47 to 63 nymphs. Still it has to be stated that, even under naturally fluctuating temperatures, BONNEMAISON's numbers are higher than the present results. This could be attributed, at least partly, to the fact that he reared the aphids exclusively on white cabbage whereas the present rearings were carried out on cauliflower or brussels sprout leaves. MARKKULA (1953) concluded that females of *B. brassicae* reared on white cabbage leaves yield more progeny than those reared on the other two crops.

2. The alate virginoparae deposited an average number of nymphs ranging from about 13 to 23 nymphs per female. These results agree with the results of other authors (BROADBENT, 1949; BONNEMAISON, 1951; MARKKULA, 1953) who found an average of 12 to 21 nymphs per alate female. It is obvious that apterous virginoparae respond to different conditions more than alatae. The latter are naturally predisposed for dispersion and so may live under more varying conditions than the former.

3. Under conditions used in these series of experiments, the maximum number of progeny per apterous virginopara was 53 nymphs whereas it was 35 for the alate one.

TABLE 8. Fecundity and longevity of *Brevicoryne brassicae*

A. APTEROUS VIRGINOPARAE

Exp. no.	Site	Food plant and condition	Date of start of experiment	Number of virginoparae	Longevity of adults in days		Progeny				Temperature °C		
					Max.	Aver. and S.E.[1]	Aver. no. of nymphs per ♀ and S.E.	Range of total progeny per ♀	Aver. no. of nymphs per ♀/day[2]	Max. no. of nymphs per ♀/day	Max.	Min.	Aver.
1	Outdoor insectary	Cauliflower, in glass dishes	11-VIII-'59	45	49	21.2±1.56	27.5±1.8	7–53	1.29	7	29.2	1.7	19
2	Laboratory room	Sprouts, in lamp glasses	31-VIII-'59	46	35	21.1±0.96	28.5±1.55	16–49	1.35	12	22.1	13.9	19
3	Laboratory room	Cauliflower, in glass dishes	29-IX-'59	50	33	24.2±0.9	26.2±1.04	8–42	1.08	9	19.8	12.0	17
4	Outdoor insectary	Cauliflower, in glass dishes	23-VI-'60	22	43	27.8±2.03	29.3±2.78	7–43	1.05	6	30.0	6.0	16

B. ALATE VIRGINOPARAE

1	Outdoor insectary	Cauliflower, in glass dishes	11-VIII-'59	45	34	19.4±1.13	18.5±0.95	7–32	0.95	7	29.2	1.7	19
2	Laboratory room	Sprouts, in lamp glasses	17-IX-'59	22	36	23.5±1.47	16.1±0.59	12–21	0.68	12	21.3	13.9	18
3	Laboratory room	Cauliflower, in glass dishes	29-IX-'59	48	30	16.3±1.08	13.1±0.7	4–21	0.8	10	19.8	12.0	17
4	Laboratory room	Sprouts, in lamp glasses	13-X-'59	20	48	26.2±3.31	18.8±1.11	11–33	0.72	15	19.8	12.0	16
5	Laboratory room	Cauliflower, in glass dishes	25-X-'60[3])	16	30	19.4±2.01	23.4±2.11	10–35	1.21	9	23.0	15.0	20

[1]) S.E. = standard error = standard deviation of the mean.

[2]) This value is obtained by dividing the total number of nymphs produced by all females involved in the experiment by the total number of days those females lived.

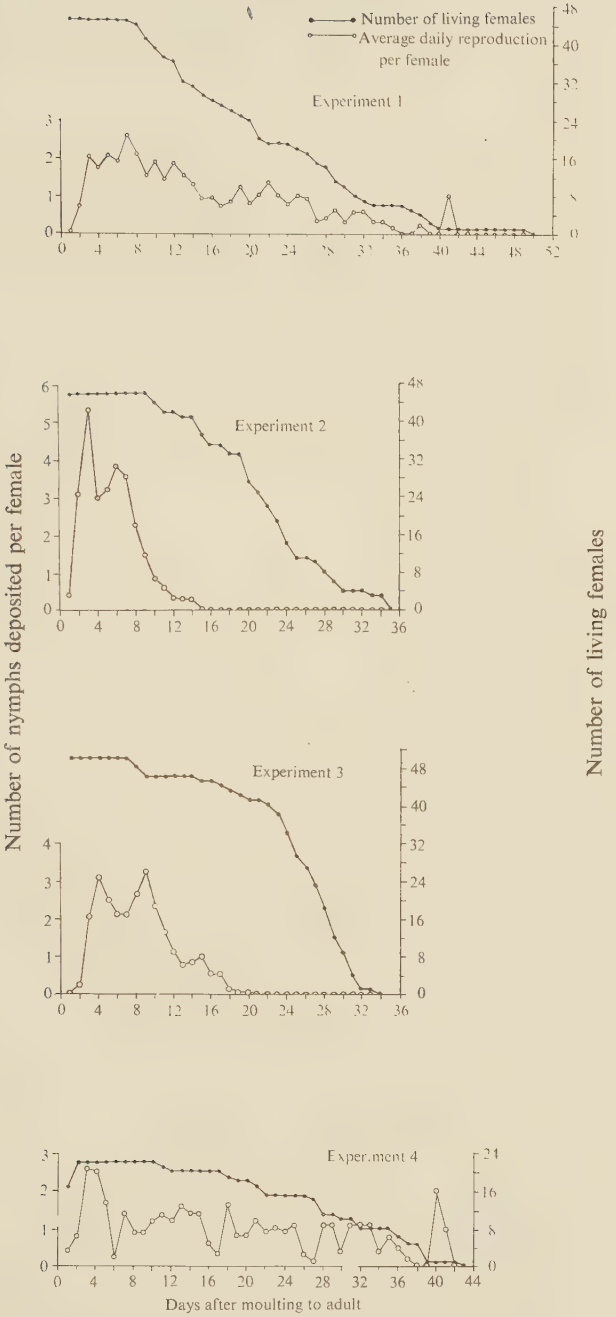


FIG. 4. Daily rate of reproduction and mortality of *B. brassicae* (apterous virginoparae). Explanation see table 8

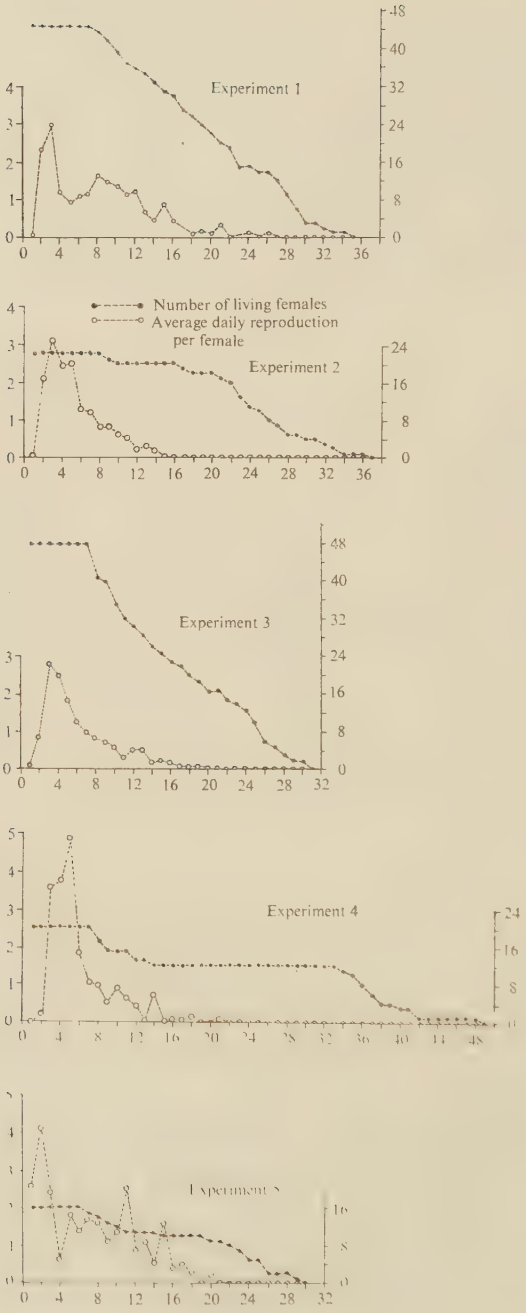


FIG. 5. Daily rate of reproduction and mortality of *B.brassicae* (alate virginoparae). Explanation see table 8 and fig. 4

4. When apterous and alate virginoparae were reared under the same conditions, there was a tendency for the apterous to live longer than the alate ones.

5. The value representing the number of nymphs deposited per female per day is generally higher in case of the apterous virginoparae than in the alate ones.

6. Fig. 4 and 5 show that, though deviations may exist, the average daily reproduction follows a general pattern in either the alate or the apterous virginoparae. Other conditions being equal, the alatae reach the peak of their daily reproductivity slightly earlier than the apterous ones, after which the rate drops more sharply and finishes also earlier.

In most cases in apterous virginoparae, two peaks in the daily larviposition could be discerned a few days apart, followed by a gradual decline. This type of daily reproduction means that normally the alatae effectuate most of their reproduction capacity at a comparatively earlier date than the apterae. This fact is of importance in determining the effect of parasitism in reducing the number of progeny produced by each of the two forms of aphids when parasitized in a late stage (see p. 513).

CHAPTER III

SEASONAL COURSE OF ABUNDANCE OF *BREVICORYNE BRASSICAE* (L.) IN THE FIELD

1. INTRODUCTION

Having obtained the basic information mentioned in the previous chapter, the next step was to follow the population changes of the aphid throughout the season. As mentioned in chapter I, aphid populations in the temperate regions show a characteristic seasonal trend. Four examples of such a trend will be given here, concerning aphids infesting different groups of host plants.

De Fluiter (1954) studied the phenology of the strawberry aphid, *Pentatrichopus fragaefolii* Cook. in The Netherlands and stated that after mild winters or with favourable climatic conditions in spring and early summer, the populations of the aphid increase to a high peak in late June or during July which is always followed by a rapid decline. Low population densities persist in August and early September but increase again with favourable autumn weather in late September and October.

Dunn & Wright (1955) studied the populations of the pea aphid, *Acyrthosiphon pisum* (Harris) in England from 1948 to 1951 on several leguminous crops. They have demonstrated that the aphid follows a more or less typical trend of abundance, with an acute increase early in the season to a peak followed by a sharp decline. Later, if conditions are favourable, a new peak of abundance may occur. The timing of the first peak shifted back and forth from May to July according to the different crops, different planting time and different years. On late crops the same trend of abundance occurs with a peak in September or October.

The same trend of a population increase followed by a sudden depression

has been observed for aphids on potatoes. BROADBENT (1953) stated that typically in England the aphid infestation of potatoes starts with a few alatae depositing nymphs which develop into apterae and multiply until a maximum is reached usually during July. The aphid populations then decline rapidly and occasionally rise again towards the end of the season. However, he added that sometimes under favourable conditions the decline may not be appreciable and the population may remain high throughout the late summer.

EVENHUIS (1958, and unpublished notes) studied the population dynamics of the woolly apple aphid, *Eriosoma lanigerum* (Hausm.), at Wageningen and the Province of Zealand. He has shown that generally the population of the aphid starts with a very low initial density in May which gradually increases till it reaches its maximum late in July. This is followed by a gradual decline to reach a minimum late in September. A second increase may occur and reach another peak of infestation towards the end of October followed by a decline late in November.

It is thus indicated that generally the aphid populations are characterized by two declines in numbers, one occurs in mid-season and one in late autumn. The autumn decline could easily be attributed to physical factors such as low temperature and a short photoperiod. In most of the above mentioned instances these factors cause the occurrence of sexual forms, hence winter eggs instead of virginoparae are deposited. On the other hand, many ecological factors are responsible for the mid-summer decline. Thus, there are more speculations about the cause of that decline which affects both autoecous non-migrating species of aphids, such as *A. pisum*, *P. fragaefolii*, and *B. brassicae*, as well as heteroecous migrating species, such as *Myzus persicae* (Sulz.).

In most of the examples referred to, the most probable physical factor causing the mid-summer decline was heavy rain (BROADBENT, 1953; DUNN & WRIGHT, 1955). Also other factors such as very high temperature and strong light which inhibit reproduction have been mentioned (MÜLLER, 1952; BROADBENT, 1953; DUNN & WRIGHT, 1955).

The biotic factors which have been mentioned in this connection are:

1. Condition of the host plant: In several occasions in case of pea aphid infestations on various leguminous crops, DUNN & WRIGHT (1955) mentioned cutting of the crop as one of the main factors for the drop of the aphid population. The physiological condition of the plant is more likely to be of particular importance in the population dynamics of the aphids because it affects their survival, development and reproduction (KENNEDY & STROYAN, 1959). In several cases the decline in aphid populations has been attributed to increased maturity of the host plant which rendered it unfavourable as food. However, this explanation seems improbable in some cases, such as the pea aphid referred to above, where a later increase in populations might occur in the same progressively more mature and dessicated plants (DUNN & WRIGHT, 1955). Furthermore, during a particular mid-season period, the decline is usually general on different cultivated crops, as well as weeds, all in different conditions of growth and maturity. Therefore, generally the number of most species of aphids is simultaneously very low during that period (MÜLLER, 1952; BROADBENT, 1953).

In case of the strawberry aphid, *P. fragaefolii*, DE FLUITER (1954) concluded that the peaks of aphid infestation always correlate with periods during which young strawberry leaves, which are preferred by the aphids, are abundant.

EVENHUIS (1958) stated that the mid-summer decline in the woolly apple aphid cannot be readily attributed to the effect of natural enemies or to the climatic factors. He believed that such a decline may be related to the physiological condition of the host plant.

2. The production of winged forms: The change from apterae to alatae, which leads to a mass migration of the winged adults, has been mentioned as a cause of the rapid decline after the summer maximum (BROADBENT, 1953; DUNN & WRIGHT, 1955). However, this also cannot stand the same argument that the decline is general, regardless of the condition of the host plants which affects the appearance of the alate forms. Moreover, the decline occurred irrespective of the proportion of immature winged forms in the population (DUNN & WRIGHT, 1955).

3. Natural enemies, such as predators, parasites and pathogens: EVENHUIS (1958) concluded that the effect of natural enemies cannot offer a satisfactory explanation to the summer decline of the woolly apple aphid. He stated that aphids enclosed in cages in the absence of parasites and predators also show a similar decline of population density. On the other hand, the natural enemies were mentioned in other instances as one of the factors responsible for the decline in aphid populations (BROADBENT, 1953; DUNN & WRIGHT, 1955).

BROADBENT (1953) cited instances where the Hymenopterous parasites and the Coccinellid predators prevented a population of *M. persicae* from developing on potatoes in England. Furthermore, he mentioned that entomogenous fungi occasionally deplete potato aphid populations when the weather is warm and damp. The natural enemies mentioned by DUNN & WRIGHT (1955) as partly responsible for the mid-season decline of the pea aphid are Hymenopterous parasites, Coccinellidae (especially *Coccinella septempunctata* L.), Syrphid larvae and entomogenous fungi.

It has been mentioned in CHAPTER I, that such a study of the numerical changes in a field population of the cabbage aphid was not carried out in detail before. In the following part the seasonal abundance of the aphid in The Netherlands will be dealt with.

2. POPULATION CHANGES OF B. BRASSICAE IN THE FIELD IN 1959 AND 1960

The population changes of the cabbage aphid were followed throughout the main season of infestation in the years 1959 and 1960 in brussels sprout fields located on a heavy clay soil near Wageningen.

A. Material

In 1959 two adjacent fields were used for sampling:

Field A: The area of this field was about 250 m^2 (18×14 m). Eight hundred cauliflower plants (variety Climax) were transplanted into the field on 7.IV.'59 in 32 rows of 25 plants each. On 17.VI.'59, 744 brussels sprout plants (variety Westlandse) were transplanted alternatively between the cauliflower rows, so as to form 31 rows of 24 plants each. The distance between the brussels sprout plants was about 60 cm in each direction. On 7.VIII.'59 the cauliflower plants

were removed and the sprout plants were allowed to remain till the end of the season.

Field B: The area of the field was about 308 m^2 (22 × 14 m). On 23.IV.'59 twelve rows of potato plants (variety Dore) were planted, each row had 42 hills, which gave a total of 504 hills. On 11.VI.'59, brussels sprouts, same variety as field A, were transplanted into the field in rows between the potato rows, so that 468 sprout plants were transplanted in 13 rows each with 36 plants. The distance between the sprout plants was 60 cm in each direction except across the potato rows where it was 180 cm. On 17.VII.'59, the potato plants were removed and the brussels sprouts were allowed to remain till the end of the season.

The summer of 1959 was dry and so the two fields were water-sprinkled several times during the season. Sprout plants in field A were less vigorous than those in field B mainly because some parts of field A were higher and so the soil was comparatively drier than in field B. Besides, the plants were more crowded in field A.

The two fields A and B were designed so as to represent roughly what happens in practice when early crops, such as early potatoes and cauliflower, are infested with aphids (mainly *B. brassicae* and *M. persicae* on cauliflower, and *M. persicae* on potatoes). These infested early crops are thought to act as a suitable habitat for building up populations of predators and parasites of aphids. These natural enemies would disperse to the new crop of brussels sprouts either when the early crops are removed or when dispersal is induced by decrease of the aphid density.

In 1960 only one field (field C), about 192 m^2 in area (16 × 12 m), was sampled. This field was situated on the same site of the fields of the previous year. It was surrounded on each side by a row of brussels sprout seed plants. On 18-V-'60, 567 brussels sprout plants were transplanted into the field in 27 rows each with 21 plants. Distance between the plants was about 60 cm in all directions.

In all three fields no chemical treatments were applied.

B. Sampling and counting

The "three-leaf method" was used in sampling all three fields. The method was used by Anscombe (1948) for estimating aphid numbers on potato plants and later was adopted by Church & Strickland (1954) for cabbage aphids on brussels sprouts. In general terms the method comprises the counting of aphids on each of three stratified leaves per plant (one upper, one middle and one lower leaf), sampling a number of plants scattered over the field. Knowing the mean number of each of the three categories of leaves per plant, it is possible to calculate the mean number of aphids per plant.

Church & Strickland (1954) have tested the method by uprooting a number of brussels sprout plants, taking several three-leaf samples till the plants were stripped (each plant producing eight to ten of such samples), and counting the number of cabbage aphids per leaf. They concluded that the three-leaf method is accurate enough to estimate the population densities of the aphid.

The actual method of estimating the cabbage aphid populations in the present work is as follows:

1. The border rows were excluded from sampling.

2. Once every week 50 plants out of each field were sampled. To determine the first plant to be sampled, each week any plant of the four corners of the field was picked at random. This plant was given any random number between and including 1 and 10. Proceeding from this number to any one of the two directions of rows, plant number 10 was selected as the first plant to be sampled. This procedure assured that the first plant would be taken at random from any one of 76 different plants in the field (only of 58 plants in field B, 1959).

3. Once the first plant had been selected and sampled, the next plant in the row was given number 1 and moving in the same direction plant number 10 was sampled again. This procedure was continued until the end of the row and then backwards in the following row. In this way each tenth plant was sampled up to a total number of fifty plants. In field B, with less than 500 plants, every seventh plant was sampled.

Because of the wide range of positions of the first plants and since in course of the season some of the plants in the field died and were removed, leading to a new arrangement almost every week, it was practically impossible to sample the same set of fifty plants per field twice during the season.

4. As stated above from each sampled plant three leaves were taken; one leaf at random from each of the upper, middle and lower parts of the plant. Usually the upper leaf was taken from the crown or slightly lower, the middle leaf from the mature ones around the middle part of the plant and the lower leaf from the old senescent ones near the base of the plant.

CHURCH & STRICKLAND (1954) stated that "approximately 95% of the aphids infesting a sprout plant at this time (September 1951 in England) were on the leaves". The present writer could generally confirm this statement, but at the period of extremely high density in the autumn of 1959, a considerable fraction of the population occurred also on the sprouts. In such cases ignoring the sprouts would account for a considerable error. Hence, in the present work the sprouts were taken together with their leaves, and the aphids on both parts were added together.

5. The aphids were counted and recorded immediately in the field. However, in case of a heavy infestation, to save time and to render it possible to sample all the fifty plants on one day, some of the heavily infested leaves were kept separately in plastic bags in cold storage to be counted within the following two or three days.

6. Because the counts were mostly carried out in the field, it was not possible to classify the nymphs accurately into their four instars. Thus the aphids were classified into the following groups:

Young nymphs; representing mainly the first and early second nymphal instars.

Middle nymphs; representing mainly the late second and early third nymphal instars.

Advanced nymphs; representing mainly the late third and all fourth nymphal instars.

Apterous viviparae; easily distinguished by the young nymphs usually around them and by the anal plates.

Alate viviparae.

Apterous oviparae; sexual females late in the season.

The alate males, also late in the season, were not included in the counting.

7. At the same time the following groups were also counted:
   1. Mummies of *B. brassicae*, which resulted from parasitized aphids, classified into intact mummies and mummies with emergence holes.
   2. Any stages of predators.
8. Simultaneously all the leaves of every other brussels sprout plant, so 25 out of 50 plants, were counted and classified into upper, middle and lower leaves. Mostly these classes correspond with the upper, middle and lower thirds of the plant. So it was possible to obtain the mean number of leaves of each of the three categories per plant.
9. These counts were continued once every week as follows:
   Field A; from 10-VII-'59 till 20-XI-'59 inclusive.
   Field B; from 6-VII-'59 till 10-XI-'59 inclusive.
   Field C; from 1-VI-'60 till 27-X-'60 inclusive.
10. In order to obtain the average number of each of the counted items per plant, the following formula was applied:

$$n = \frac{1}{N} (\bar{r}_1 \Sigma x_1 + \bar{r}_2 \Sigma x_2 + \bar{r}_3 \Sigma x_3)$$

where: n = average number of a counted item per plant
N = number of plants sampled (50 in each case in the present work)
$\bar{r}_1$ = average number of upper leaves per plant
$\bar{r}_2$ = average number of middle leaves per plant
$\bar{r}_3$ = average number of lower leaves per plant
x_1 = number of counted item (e.g. stage of aphid, mummy, predator) per upper leaf
x_2 = number of counted item per middle leaf
x_3 = number of counted item per lower leaf

This method of sampling proved to be satisfactory to describe the population changes in the course of the season. It is time consuming, but after some training and adaptation, it was possible in all cases, even when the infestation was extremely high, to finish the sampling of the fifty plants within about ten hours.

C. Results

The results of the counts of *B. brassicae* in the two years are given in tables 9, 10 and 11 and in fig. 6.

It is clear that, though there are some differences in the number of aphids between the two fields A and B (1959), the general trend of infestation in both fields more or less follows the same pattern. It is also seen that counts on the sprout plants in 1959 did not start early enough to show the starting point of the infestation as has been the case in 1960. However, judging from counts that have been made weekly on the cauliflower plants in field A for four weeks, starting 1-VI-'59, and from the counts on brussels sprouts in 1960, a picture of the population changes of the cabbage aphid throughout the season could

TABLE 9. Average number of *B. brassicae* per brussels sprout plant
Field A – 1959

Date	Average number of aphids per plant								
	Nymphs				Adults				Total no. of all stages
	Young	Middle	Advanced	Total no. of nymphs	Apterous viviparae	Alate viviparae	Apterous oviparae	Total no. of adults	
10-VII	648	171	62	881	49	12	0	61	942
17-VII	743	331	151	1225	105	6	0	111	1336
24-VII	112	102	47	261	13	2	0	15	276
31-VII	32	27	14	73	2	1	0	3	76
7-VIII	20	16	10	46	0	1	0	1	47
14-VIII	19	17	4	40	3	1	0	4	44
21-VIII	39	13	12	64	3	1	0	4	68
28-VIII	136	39	21	196	16	1	0	17	213
4-IX	149	58	58	265	24	2	0	26	291
11-IX	1142	221	231	1594	257[1])	10		267	1861
18-IX	1428	506	345	2279	327[1])	13		340	2619
26-IX	2438	822	414	3674	496[1])	31		527	4201
2-X	3231	1601	1072	5904	474	72	460	1006	6910
9-X	2276	1520	1840	5636	156	99	1755	2010	7646
16-X	500	549	676	1725	156	41	1265	1462	3187
23-X	271	576	743	1590	95	13	943	1051	2641
31-X	311	596	728	1635	89	8	961	1058	2693
6-XI	127	297	411	835	35	7	499	541	1376
20-XI	72	115	296	483	35	1	384	420	903

TABLE 10. Average number of *B. brassicae* per brussels sprout plant
Field B – 1959

Date	Average number of aphids per plant								
	Nymphs				Adults				Total no. of all stages
	Young	Middle	Advanced	Total no. of nymphs	Apterous viviparae	Alate viviparae	Apterous oviparae	Total no. of adults	
6-VII	578	192	100	870	54	4	0	58	928
13-VII	307	193	125	625	49	8	0	57	682
20-VII	1032	437	317	1786	144	9	0	153	1939
27-VII	336	190	125	651	31	8	0	39	690
3-VIII	107	105	48	260	15	3	0	18	278
10-VIII	51	12	6	69	3	3	0	6	75
17-VIII	26	27	6	59	0.5	0.5	0	1	60
24-VIII	63	24	11	98	7	2	0	9	107
31-VIII	241	69	38	348	15	2	0	17	365
7-IX	279	36	29	344	33	2	0	35	379
14-IX	1129	286	107	1522	119[1])	9		128	1650
21-IX	1055	364	123	1542	88[1])	68		156	1698
28-IX	1885	778	291	2954	261[1])	86		347	3301
5-X	2294	1198	1010	4502	173	200	447	820	5322
12-X	1126	1199	1015	3340	157	142	1601	1900	5240
20-X	790	916	1171	2877	76	67	1555	1698	4575
26-X	283	560	383	1226	22	18	982	1022	2248
2-XI	212	612	585	1409	30	21	1265	1316	2725
10-XI	101	327	547	975	20	10	1230	1260	2235

[1]) These numbers represent the total of viviparous and oviparous females.

TABLE 11. Average number of *B. brassicae* per brussels sprout plant
Field C – 1960

Date	Average number of aphids per plant								
	Nymphs				Adults				Total no. of all stages
	Young	Middle	Advanced	Total no. of nymphs	Apterous viviparae	Alate viviparae	Apterous oviparae	Total no. of adults	
1-VI	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8-VI	0.9	0.4	0	1.3	0	0.1	0	0.1	1.4
15-VI	19	3	1	23	2	0.4	0	2.4	25.4
22-VI	81	28	11	120	8	7	0	15	135
28-VI	477	161	49	687	7	63	0	70	757
6-VII	677	275	105	1057	29	32	0	61	1118
13-VII	225	109	230	564	154	6	0	160	724
20-VII	684	148	96	928	91	4	0	95	1023
26-VII	266	145	173	584	121	3	0	124	708
3-VIII	29	20	45	94	14	0	0	14	108
10-VIII	46	9	14	69	4	0	0	4	73
17-VIII	4	4	10	18	1	0	0	1	19
24-VIII	6	2	3	11	2	0	0	2	13
1-IX	8	1	1	10	1	0	0	1	11
8-IX	0	1	1	2	1	0	0	1	3
15-IX	1	1	3	5	1	0	0	1	6
22-IX	23	1	2	26	3	0	1	4	30
28-IX	59	18	3	80	7	1	7	15	95
5-X	22	18	8	48	6	0	4	10	58
13-X	0	0	1	1	0	0	1	1	2
20-X	0	1	4	5	0	0	5	5	10
27-X	0	0	0	0	0	0	4	4	4

be drawn. In general, the pattern fits into a bimodal curve with one maximum early in the season (17-VII-'59 in field A, 20-VII-'59 in field B and 6-VII-'60 in field C) and another maximum late in the season (9-X-'59 in field A, 5-X-'59 in field B and 28-IX-'60 in field C) separated by a minimum in mid-season (14-VIII-'59 in field A, 17-VIII-'59 in field B and 8-IX-'60 in field C). However, there may exist great variation in the rate of population growth from field to field and from year to year. For instance, during the first maximum the population of *B. brassicae* per sprout plant averaged 1336 in field A (year 1959), 1939 in field B (year 1959) and 1118 in field C (year 1960). At the second maximum, however, the difference was most conspicuous; the average number of all stages of *B. brassicae* (winter eggs excluded) per sprout plant was 7646 in field A and 5322 in field B while it was only 95 in field C. The mid-season minimum averaged 44 aphids in field A, 60 in field B and 3 in field C.

This shows that in 1959 and 1960 there was no striking difference between the number of aphids per plant during the first peak while the difference was very large during the second peak late in the season.

The picture of the population changes of the cabbage aphid in 1959 and 1960 clearly showed drastic fluctuations, especially during mid-summer. Furthermore, it is shown that a considerable difference in the aphid abundance occurred between the two years, especially during the second peak of infestation.

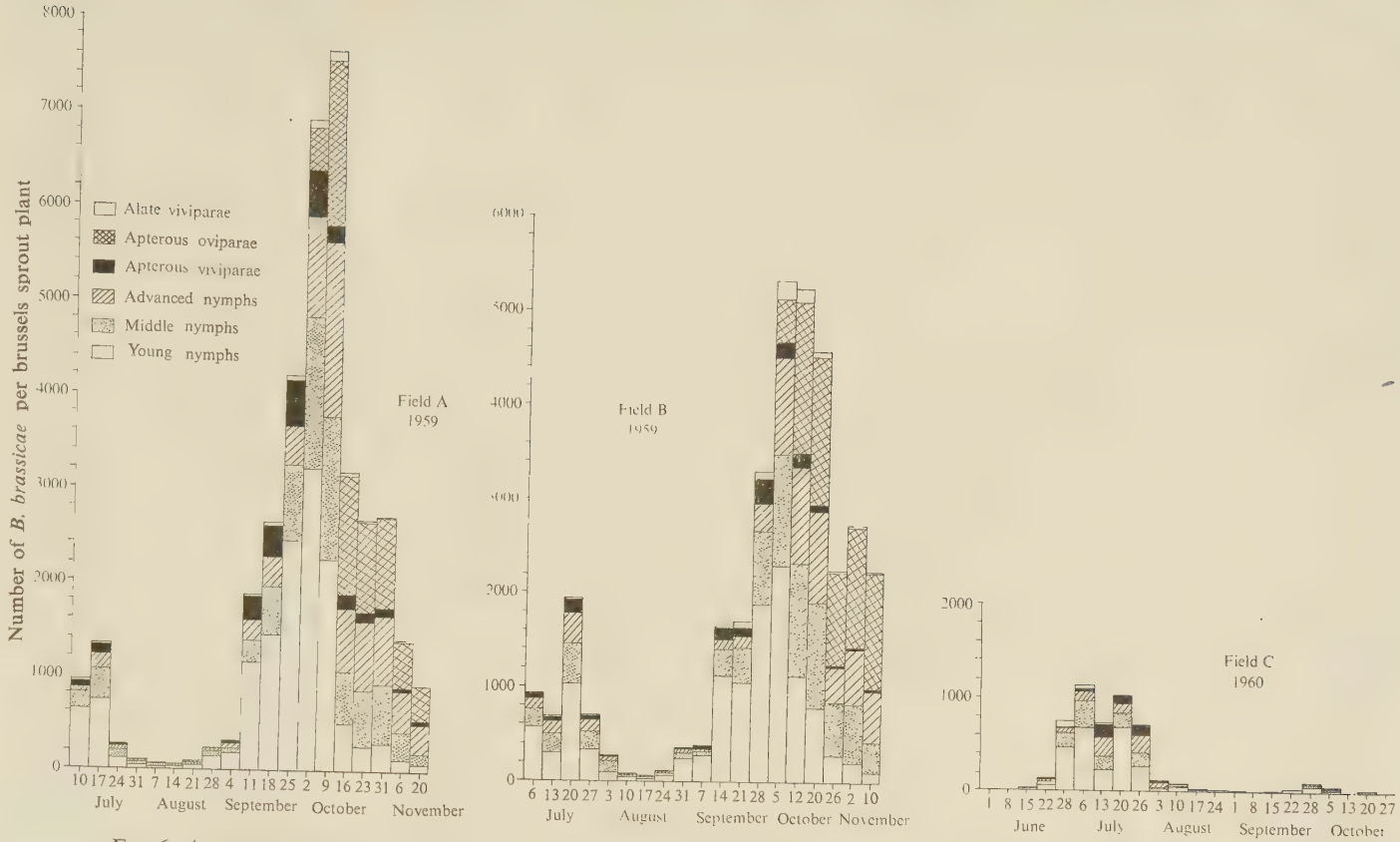


FIG. 6. Average numbers of *B. brassicae* per brussels sprout plant in fields A and B. (1959) and C (1960), near Wageningen

In the following chapter an attempt will be made to discuss some of the mortality factors of the aphid, not intendedly to determine their precise role in the whole complex of natural resistance, but rather to compare their relative importance during the two almost extreme succesive seasons with such large differences in aphid populations.

CHAPTER IV

ANALYSIS OF THE SEASONAL FLUCTUATIONS IN POPULATION DENSITY OF *BREVICORYNE BRASSICAE* (L.)

1. INTRODUCTION

It has been shown in CHAPTER III that the population density of the cabbage aphid fluctuates widely in the course of the season and from year to year. A complex of factors must have played a role in inducing these changes in the population densities both in different periods within the same season and in the two years 1959 and 1960. These factors may cause the changes by affecting the reproduction, migration and mortality. It would have been worth while to analyse the combined influence of these factors and treat the three above mentioned components separately. However, such an analysis would be inadequate and meets so many difficulties that the results would only be a rough approximation of the facts. Some of these difficulties are:

1. The generations of the aphid overlap almost right from the beginning of the population growth in spring.
2. Most of the factors involved interact in a complicated way.
3. It was impossible to obtain systematic observations on reproduction and migration as affected by the complex of conditions prevailing in the field.

In view of these facts, it proved more useful to investigate the effects of some of the abiotic and biotic factors on the numbers of the cabbage aphid, in order to determine whether or not they can account for the remarkable changes in population density.

2. LITERATURE

A complete analysis of the seasonal trend in the growth of the cabbage aphid populations has not been made before. Moreover, the results given by different authors are not in accordance, possibly because of the different conditions under which they were obtained. Sometimes the role of parasites and predators proved to be of primary importance. Thus, HERRICK & HUNGATE (1911) mentioned instances in New York State where *B. brassicae* never reached high densities, because parasites and predators kept the aphid in check. They recorded and commented on four species of parasites and on certain predators belonging to the families Coccinellidae, Syrphidae and Chrysopidae. STRICKLAND (1916), working in Western Canada, presumed that the main factor preventing infested cabbages from being destroyed is the activity of several natural enemies. He

mentioned in particular that in 1914 and 1915 in South Alberta (Canada) the only parasite was *Aphidius rapae* Curtis and that it was very valuable in preventing outbreaks of *B. brassicae*. BARNES (1931) thought that late in the season 1929 the cabbage aphid attack was controlled in a particular district in England as a result of heavy parasitism.

In other cases the effect of parasites proved to be of minor importance. PETHERBRIDGE & MELLOR (1936) concluded that although the parasites were active during the summer, they were unable to prevent the cabbage aphid from multiplying rapidly when the weather conditions were favourable. In their opinion parasites were less important in reducing the numbers of the aphid than larvae of the predator *Syrphus luniger* Mg. Unfortunately they included as parasites *Asaphes vulgaris* Wlk. and *Lygocerus testaceimanus* Kieff. which are now known to be definitely secondary and tertiary parasites.

In The Netherlands, WOLDA (1956) has observed that, in the garden under investigation, the larvae of *Phaenobremia* sp. and Syrphids were the most important factors which decreased colonies of *B. brassicae* on brussels sprout plants during August 1956.

RIPPER (1944) explored the possibilities of integrated control measures by applying biological control as a supplement to chemical control against the cabbage aphid in England. He used nicotine vapour for an exposure of about one minute as a selective insecticide which resulted in a high mortality of the aphid whereas the predators and the parasite survived. Hence the fraction of aphid population that survived the treatment was eventually eliminated either immediately by the predators or within three weeks by the parasites.

MARKKULA (1953) recorded as natural enemies of the cabbage aphid in Finland six species of Syrphids, four Coccinellids, one Hemerobiid, two *Aphidius* spp. and one Chalcid parasite.

BÖRNER & HEINZE (1957) recorded a list of names of 44 predators and 14 parasites of the cabbage aphid. Unfortunately some of these names proved to be synonyms, some need more verification and some have been proven not to be primary parasites.

GEORGE (1957) gave some preliminary results about the effect of parasites and predators on the cabbage aphid in East England. *Aphidius rapae* was the only primary parasite and its rate of parasitism was rather low. Predators comprised three species of Syrphids and one *Phaenobremia sp.* with the former apparently the most efficient. Coccinellids were remarkably absent.

As for an important effect of the climatic factors, PETHERBRIDGE & WRIGHT (1938) stated that in England the climatic factors were more important than biological factors in governing the natural rate of increase of the cabbage aphid. They added that the main predators were Syrphids and *Phaenobremia* sp., while the Coccinellids were never numerous enough to become an important factor. Parasitism was very low ranging from 2–5% only.

3. THE EFFECT OF MORTALITY FACTORS

From the data in the literature, it can be concluded that the changes in population density of the cabbage aphid are mainly due to actual mortality factors rather than to effects on reproduction or migration. Some evidence is given

here to show that the mid-season decline in the abundance of the cabbage aphid, as was demonstrated in the present work, is caused by actual mortality factors.

1. If reproduction is inhibited and no mortality factors are operating, at least the total number of nymphs counted in the week preceding the decline should survive till the following week. However, from tables 9, 10 and 11 it was shown that this was not the case and that in each of the three brussels sprout fields the total number of aphids per sprout plant just after the decline is far less than the number of nymphs one week earlier. This means that, even if reproduction completely ceased, mortality factors were still responsible for the sharp decline.

2. The data concerning the proportion of young nymphs to adult *B. brassicae* as obtained in each of the three fields, just before and during the mid-season decline is given in table 12.

TABLE 12. Proportion of young nymphs to adult *B. brassicae* before and during the mid-season decline

Field	Date	Total no. of *B. brassicae* per sprout plant	No. of young nymphs per plant	No. of adults per plant	Aver. no. of young nymphs to one adult
A	17-VII-'59	1336	743	111	6.7
	24-VII-	276	112	15	7.5
	31-VII-	76	32	3	10.6
B	20-VII-'59	1939	1032	153	6.7
	27-VII-	690	336	39	8.6
	3-VIII-	278	107	18	5.9
	10-VIII-	75	51	6	8.5
C	20-VII-'60	1023	684	95	7.2
	26-VII-	708	266	124	2.1
	3-VIII-	108	29	14	2.1
	10-VIII-	73	46	4	11.5

These data show that, judging from the proportion of young nymphs to adults, in fields A and B (1959) reproduction was not inhibited or slowed down during the decline as compared to the period before the decline. In field C, however, reproduction was slowed down for two weeks and then increased again while the total number of aphids was still decreasing. This means that the decline in aphid populations occurred with or without the inhibition of reproduction and so most probably other factors may be responsible for it.

3. From observations in the three fields already mentioned and in other fields in The Netherlands in 1959 and 1960, in most cases the remains of the destroyed colonies could still be found on the plants and the effect of some mortality factors such as predators or fungous disease could be discerned on them.

Some of the mortality factors that might be responsible for the population changes will be dealt with in this part.

A. The effect of abiotic factors

In the present work the effects of temperature and precipitation were studied in some detail.

1. Temperature: It has been shown on page 7 that the alternation of comparatively high and low temperatures early in the spring of 1960 (fig. 1) destroyed a large number of fundatrices which had hatched in warm periods and subsequently died during a following cold spell. Moreover, it was also found (table 7) that it was not possible to maintain a complete generation of *B. brassicae* at an average temperature of 4.9 °C (the minimum was 3.5 °C). All nymphs died while still in the first instar. The threshold of development for the species is reported to be 1.7 °C in Finland, 3.1 °C and 8 °C in France and 3–4 °C in Israel.

On the other hand, only 2 individuals out of 50 survived a high temperature averaging 30.9 °C (maximum 34.5 °C). Broadbent & Hollings (1951) obtained a thermal death point of 41 °C by exposing the aphid, after removal from the host plant, for one hour at 60% R.H. Presumably a slightly higher temperature or longer exposure would be needed if the aphid was kept on the host plant. Between the two lethal extremes, temperature influences the rate of development, survival, and reproduction. Furthermore, temperature would have an influence through the effect it exerts on the biotic factors (e.g. activities and development of parasites and predators). Two main questions have to be considered regarding the effect of temperature on the sharp population changes of *B. brassicae* in the sampled sprout fields in 1959 and 1960.

1. Were there such drastic and sudden changes in temperature, in the three fields late in July and early in August in both years 1959 and 1960, as to account for the sudden and persistent drop in the population of the aphid in that period?
2. Was the temperature sufficiently more near the optimum in September and October of 1959 than in the same period in 1960, to account for a peak of 7646 aphids per sprout plant in autumn of 1959 compared with only 95 aphids per sprout plant in autumn of 1960?

To help answering these two questions, the maximum and minimum daily temperatures at 10 cm above the soil surface, throughout the counting periods of 1959 and 1960, were obtained from a meteorological station situated on the border of the sprout fields (fig. 7 and 8). Furthermore, it is shown from fig. 6 that a sudden mid-season decline in the aphid population took place within a certain week late in July or early in August. To find out if a drastic change in temperature has coincided with the sudden decline in population, the temperature during the week when the decline occurred has to be compared with the temperature taken one week earlier when the population was still at a high level. These temperatures are given in table 13.

From fig. 7 and 8 and table 13 it seems unlikely that the sharp mid-season decline in the aphid density was affected by temperature. Only a drastic change in temperature during the week when the decline occurred as compared to the preceding week, when the population was high, could be responsible for the observed drop in numbers. It is obvious, however, that such a change in temperature did not take place either in 1959 or in 1960.

To answer the second question, the temperatures in September and October 1959 and 1960 will be considered (table 14).

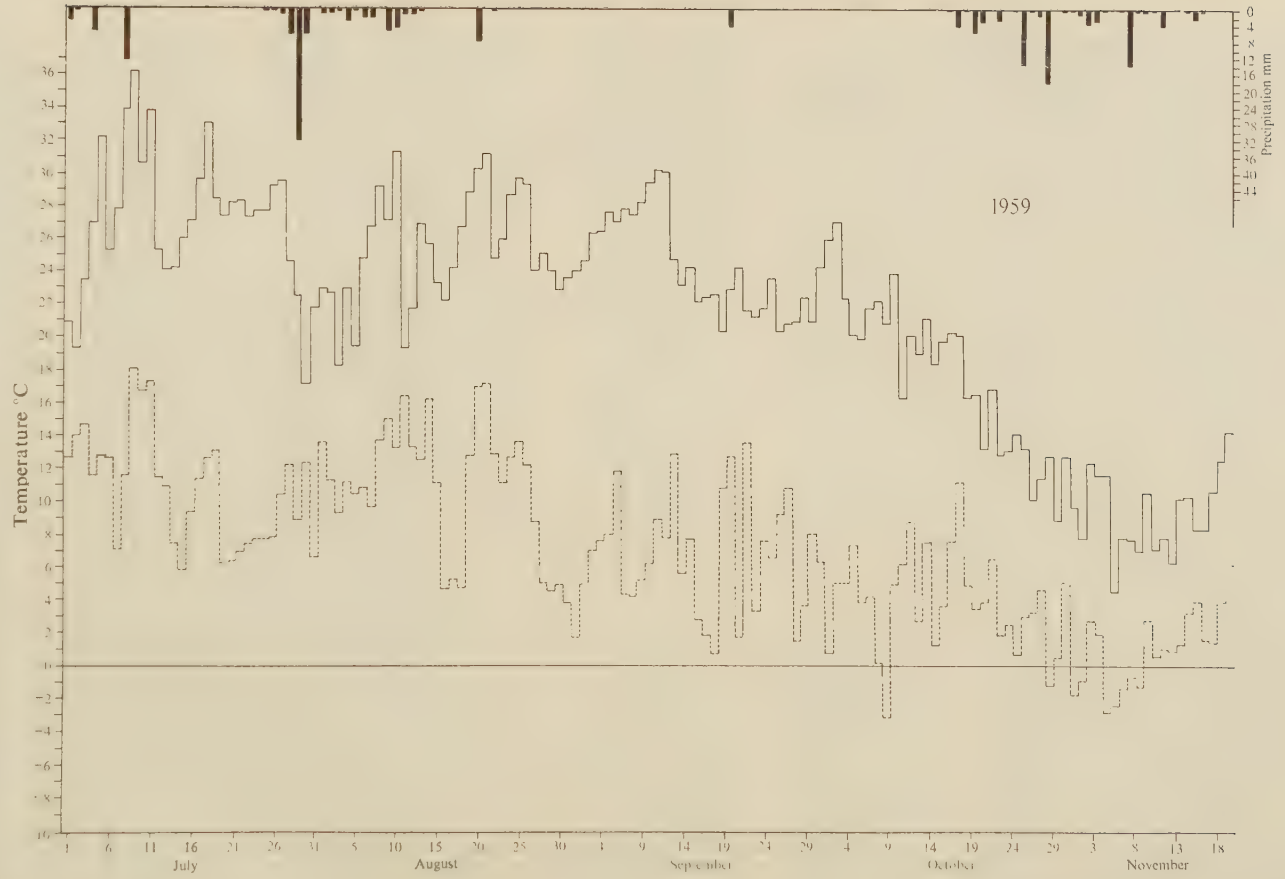


FIG. 7 Daily maximum and minimum temperature (°C) at 10 cm above soil level and precipitation (mm) from July until November 1959. (Data obtained from the meteorological station near the experimental fields near Wageningen)

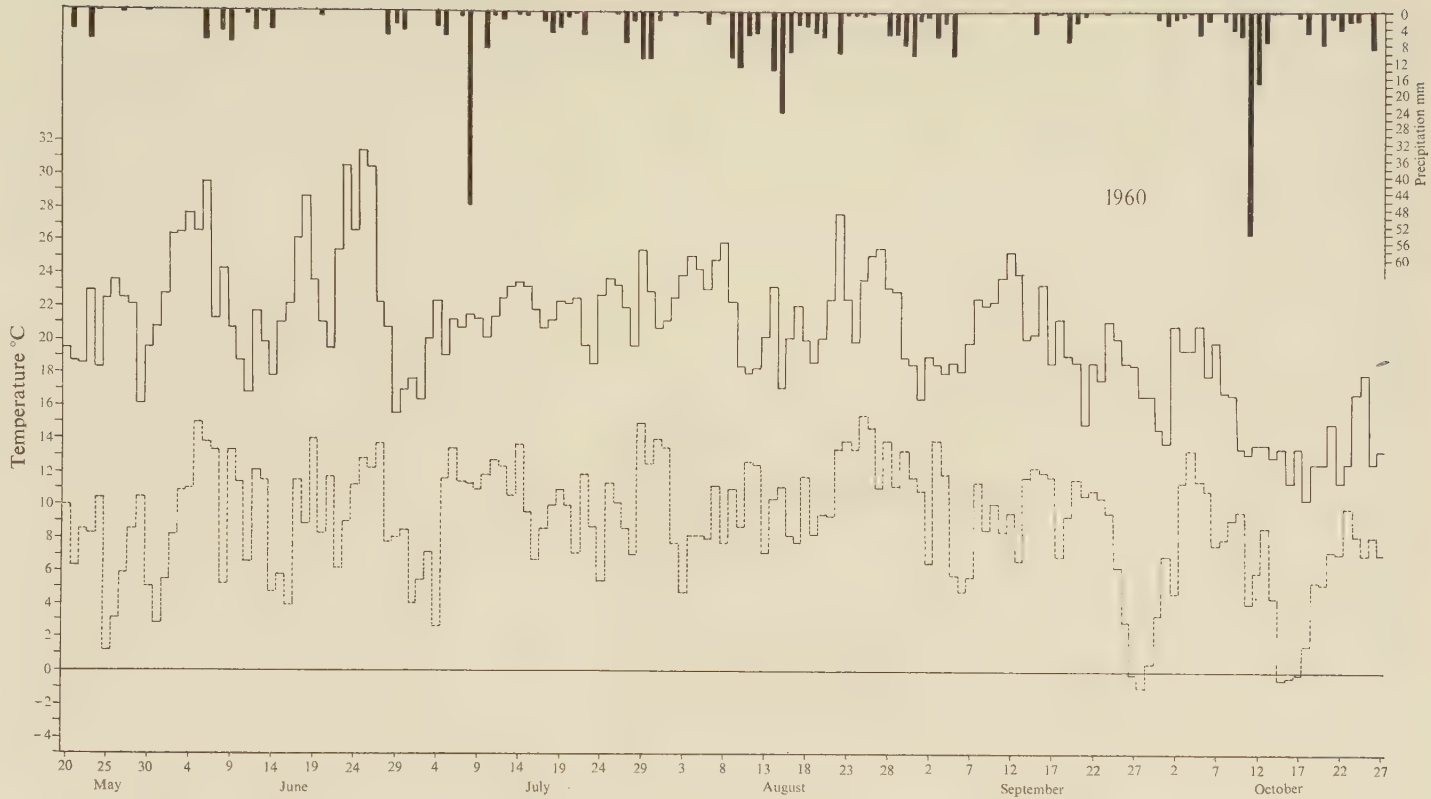


FIG. 8. Daily maximum and minimum temperature and precipitation from May until October 1960. Explanation see fig. 7

TABLE 13. Temperature °C at 10 cm above soil surface during the week when the decline in the cabbage aphid occurred and during one week earlier when the population was still high

	Field A		Field B		Field C	
	Before the population decline	During the population decline	Before the population decline	During the population decline	Before the population decline	During the population decline
Counting day	17-VII-'59	24-VII-'59	20-VII-'59	27-VII-'59	26-VII-'60	3-VIII-'60
Total number of *B. brassicae* per sprout plant .	1336	276	1939	690	708	108
Average maximum temperature for the previous week	27.3	28.9	27.6	28	21.7	22.3
Absolute maximum temperature in the previous week	33.8	29.7	33.1	29.1	23.8	25.6
Average minimum temperature for the previous week	10.5	8.6	9.4	7.8	9.1	10.4
Absolute minimum temperature in the previous week	5.7	6.2	5.7	6.4	5.4	4.7
Average temperature at 9.00 A.M. for the previous week	21.4	21.1	21.7	20.1	16.7	16.8

TABLE 14. Average monthly temperature °C at 10 cm above soil surface in autumn of 1959 and 1960

Month	Max.	Min.	Mean
September 1959	24.3	6.6	17.8
September 1960	19.7	8.1	13.8
October 1959	17.9	3.9	11.7
October 1960	14.9	6.8	10.6

It is shown in table 14 that the maximum and minimum temperatures were more widely apart in 1959 than in 1960. No accurate conclusions could be drawn from these data concerning the effect of this difference on population density of *B. brassicae*, but it is rather doubtful that it accounts for the large differences observed in the two years. On the other hand, the mean temperature of September '59 was higher than that of September '60, a fact that might have partly helped the higher level of the population in autumn '59 compared to '60. However, it is unlikely that temperature is the decisive factor, because the mean temperature in October '59 was only 1°C higher than October '60 whereas the aphid populations in the same months were totally different. Furthermore, the mean temperature in October '59 was about 2 degrees lower than September '60 and still the aphid population was extremely higher in the former than the latter month.

2. Precipitation: The year 1959 was remarkably drier than 1960. This was

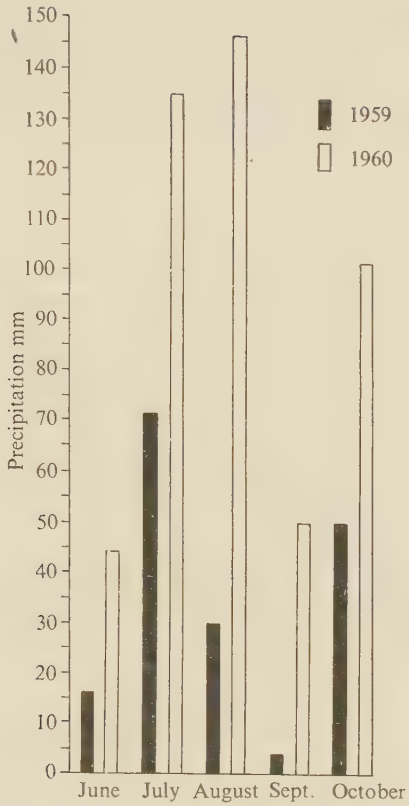


FIG. 9.
Total monthly precipitation (mm) from June until October 1959 and 1960

especially true in August, September and October (fig. 7 and 8). Actually there was almost no precipitation in late August, September and the first half of October 1959 at the time when the second peak of aphid abundance started and reached tremendous numbers. In the same period of 1960, however, with few exceptions, it rained every day. Fig. 9 shows the difference between the total monthly precipitation from June till October in 1959 and in 1960.

Extensive rainfall in 1960 compared to 1959 may have affected the abundance of *B. brassicae* in two ways. Firstly, a spread of a fungous disease was favoured by the high humidity. This disease was found responsible for eliminating whole colonies in 1960 whereas it was not encountered in 1959. Secondly, it was found during the weekly counts (tables 9, 10 and 11) that the beginning of the aphid infestation, whether early in the season or after the mid-season drop, often originated from an invasion of alate viviparae, which settled down on the plants and started forming colonies. This fact is clearly demonstrated by the immigration of alates into field B where in one week (14 to 21-IX-'59) the average number of alate viviparae per sprout plant increased from 9 to 68 whereas the number of apterous viviparae decreased from 119 to 88. In another instance, during the flight of alatae which eventually led to the first maximum in field C, within nearly one week (22 to 28-VI-'60) the number of alate viviparae per

sprout plant increased from 7 to 63 whereas the number of apterous viviparae decreased from 8 to 7.

This type of colonies, formed around alate viviparae, prevailed in the second half of August '59 and started the new infestation. Such an infestation, however, could not be started in any considerable numbers in autumn of 1960 owing to the failure of alate viviparae to fly because of almost continuous rainfall.

B. The effect of biotic factors

Biotic factors are of paramount importance in affecting the abundance of any organism. In its broad meaning, the term should include the effect of the quantity and quality of food on the organism. This effect is more pronounced in aphids because they are more closely associated with their host plants and because the condition of food will eventually lead to the formation of alate or apterous individuals. Thus it has been demonstrated in several instances that the physiological condition of the host plant is of great importance in affecting the abundance of aphids (KENNEDY & BOOTH, 1951; KENNEDY & STROYAN, 1959). The study of the physiological condition of the host plant, however, is beyond the scope of the present work and so this discussion will be limited to the natural enemies.

1. Entomophagous fungi: As has been mentioned before (p. 481) fungous outbreaks were not found at all in the colonies in 1959. In 1960, however, fungous infected colonies were very abundant during the week 26-VII to 3-VIII. On 10-VIII practically no living colonies were left and the remains of the old diseased colonies could be found on all plants. The few surviving aphids were scattered individually or in very small groups.

Hence, outbreaks of fungous diseases were partly responsible for the mid-season decline in 1960 but not in 1959.

2. Predators: Four groups of predators were found among the aphid colonies on the sprout plants:

a. Coccinellids: The main species was *Coccinella septempunctata* L. Early in the season 1959, the adults and larvae were very numerous in the field. Unfortunately it was not possible to count them because the great majority was present on the soil rather than on the plants. Any attempt to determine their population density per plant seemed rather questionable. Furthermore, since they were mostly on the soil, it could not be stated with certainty that all of them were actually feeding on the cabbage aphid. Such a situation was also found by GEORGE (1957), who stated that adult Coccinellids were frequently noticed in the brussels sprout fields but were rarely found actually on the aphid host-plants.

Just prior to the sudden decline in the two fields in July 1959, there were, especially on the soil, enormous numbers of adults and advanced larvae of *C. septempunctata* L. Probably they were partly responsible for the drop in aphid abundance in 1959. Later in the season they were present in negligible numbers.

In 1960, however, the number of Coccinellids was remarkably low in the brussels sprout fields under investigation.

Other Coccinellids that sometimes were found associated with the cabbage aphid are *Coccinella bipunctata* L., *C. bipunctata a. 4 maculata* Scop. and *Halyzia 14 punctata* L., but they were always present in very low numbers.

b. Syrphids: According to WOLDA (1956), the most important species of Syrphidae feeding on colonies of *B. brassicae* in The Netherlands is *Epistrophe balteata* Deg. The species *Sphaerophoria scripta* L., *Syrphus vitripennis* Meig. and *Lasiopticus pyrastri* L. are less frequent.

In the present work the larvae of the different species of Syrphidae were counted, as one group, on 50 sprout plants each week using the three-leaf method as has been mentioned on page 468. The counts were carried out in all three fields together with the aphid counts. The results are shown in fig. 10.

c. Phaenobremia aphidovora Rübs. (Fam. Cecidomyidae): Next to *C. septempunctata* L. this was the most generally prevailing predator in the sprout fields. The eggs were deposited within the aphid colonies on which the hatched larvae preyed. The larvae were counted in the same way as mentioned previously and the results are given in fig. 11.

d. Larvae of the family Chrysopidae: These larvae were also counted but their number was negligible throughout the counting period in 1959 and 1960.

3. Parasites: In the years 1959 and 1960 about 25,000 mummies of *B. brassicae* were collected in different areas of The Netherlands and on different cruciferous crops. About 6,000 of them gave rise to primary parasites and they all belonged to the species *Aphidius* (*Diaeretiella*) *rapae* (Curt.). In all probability this is the only primary parasite of *B. brassicae* in The Netherlands. The role of this parasite in controlling the populations of the cabbage aphid is one of the main themes of the present work and will be discussed later.

4. DISCUSSION

It is difficult to conclude which of the above factors, if any, might be responsible for the mid-season decline in population density of *B. brassicae* or for the considerable difference in its abundance late in the seasons of 1959 and 1960. However, the following points should be raised:

1. From table 13 and fig. 7 and 8, temperature and rainfall do not seem to show any sudden change that could be directly responsible for the mid-season decline mentioned above.
2. Every month from June till October had more precipitation in 1960 than in 1959. The period between, and including, the second half of August and the first half of October 1959 was almost completely dry whereas during the same period of 1960 most of the days were rainy.
3. *Coccinella septempunctata* L. frequently occurred in the sprout fields during July 1959; its number was low in 1960.
4. In 1959, two peaks of larval abundance of *Phaenobremia aphidovora* Rübs., ranging between 10 and 14 per plant, occurred coinciding with the peaks of the cabbage aphid. In 1960, the density of the larval populations of this predator was much higher, reaching a peak of 124 larvae per plant in the first week of August, also coinciding with the early peak in the density of the aphid.
5. In 1959, Syrphid larvae were mostly low in numbers, not exceeding an average of 2 per plant throughout the counting period. In 1960, they were more numerous in July and early August, reaching a top of about 8 per plant on 13-VII-'60, coinciding with the mid-season drop in the aphid population.

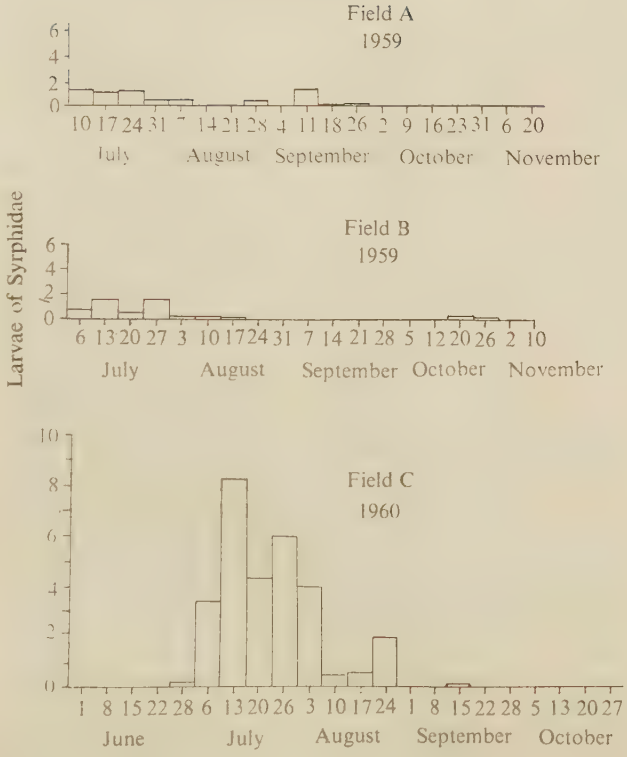


FIG. 10. Average numbers of Syrphid larvae per brussels sprout plant in fields A and B (1959) and C (1960).

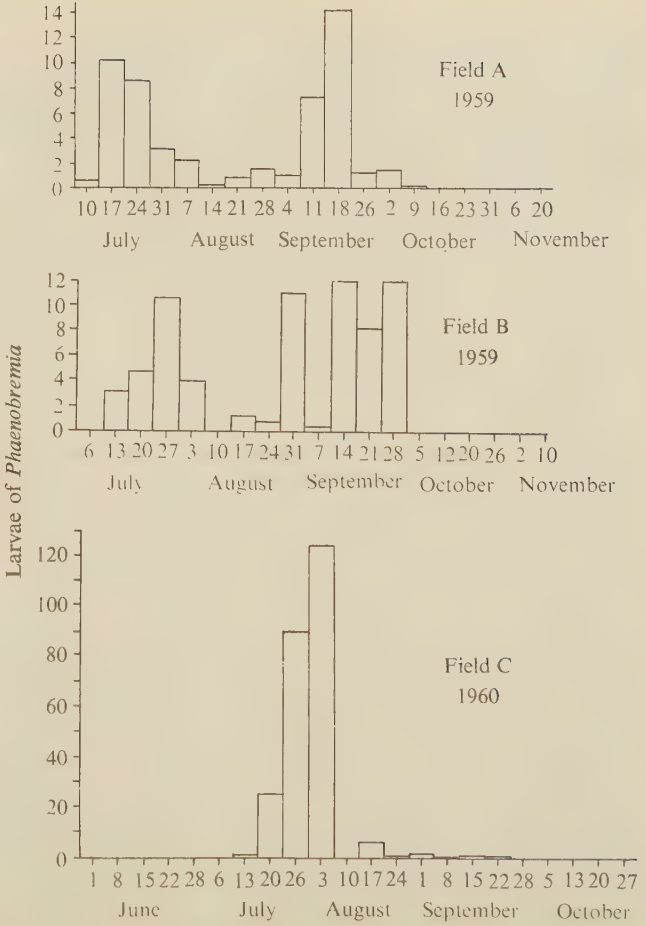


FIG. 11. Average numbers of larvae of *Phaenobremia aphidovora* per brussels sprout plant in fields A and B (1959) and C (1960).

6. At the time of the mid-season decline, most of the remains of the destroyed colonies showed that they were definitely preyed upon by predators.

7. In 1959 no fungous disease was found in the colonies whereas in 1960 the disease generally prevailed prior to and coinciding with the mid-season drop.

8. It will be shown later that at the time of the first aphid peak in both years, parasitism was rather low, so that it could not account for a high mortality. It was also low later in the season, during the second peak.

9. *Phaenobremia aphidovora* had a second peak of abundance (maximum about 14 larvae per plant) late in 1959 after the new high peak of aphid population density was already established. By that time all other predators were low in numbers. They were definitely scarce at the time when the second peak started.

In 1960 the numbers of all predators were very low from mid-August onwards.

10. The mean temperature was 4 °C higher in September 1959 than it was in September 1960. However, it was only 1 °C higher in October 1959 than in October 1960.

All these points give circumstantial evidence to draw a conclusion as to the cause of the population changes of *B. brassicae* in 1959 and 1960, which may be summarized as follows:

1. In 1959 the cabbage aphid built up a population early in the season and the predators, mainly *Phaenobremia aphidovora* Rübs. and probably *Coccinella septempunctata* L., have subsequently caused a sharp decline in aphid abundance. Later in the season alate viviparae started a new infestation that reached a very high peak of abundance owing to the scarcity of the predators, low rate of parasitism and favourable weather conditions which were at the same time unfavourable for an outbreak of the fungous disease.

2. In 1960 the early build-up of the aphid population proceeded as in the previous year. It was then checked in the same way, mainly by Syrphids and *P. aphidovora* and the outbreak of a fungous disease. It is of importance to note that the numbers of Syrphids and *P. aphidovora* were significantly higher during the first peak of 1960 than 1959. This might suggest that the dry weather which is favourable for the aphid abundance is at the same time unfavourable for those predators. There was no possibility to establish a second aphid peak of any importance. No new colonies could be established, because of the heavy and continuous rains during the period it might have started.

CHAPTER V

THE BIONOMICS OF THE PARASITE *APHIDIUS* (*DIAERETIELLA*) *RAPAE* (CURTIS) (HYMENOPTERA, APHIDIIDAE)

1. INTRODUCTION

Aphidius rapae Curt. was described in 1885 and has frequently been recorded as being the only parasite of the cabbage aphid. In several instances it was

recorded as very valuable, either alone or together with other natural enemies, in controlling outbreaks of the aphid (see p. 30). Nevertheless, no detailed study of the life history of the parasite has been published. In the present study the writer is primarily interested in the role of the parasite as a mortality factor of the cabbage aphid. However, it is obvious that more basic information concerning the life history of the parasite was needed before conclusions could be drawn as to the possible effect of the parasite on the population density of the aphid.

The present chapter will deal mainly with the bionomics of *A. rapae*. A following chapter will be concerned with host-parasite interrelations.

In the literature detailed information concerning the parasite is rather scarce. WHEELER (1923) described the mature larva of the parasite. SPENCER (1926) studied the biology of the parasites and hyperparasites of some Aphids in Ohio, U.S.A., and discussed the relationships which existed between the host plants, aphids, primary parasites and hyperparasites. *B. brassicae* and *Aphidius rapae* were included in his study. He also studied the embryonic development of the parasite *A. rapae*, its immature forms, and the internal effects of the parasite larvae on the tissues of the host. ULLYETT (1938) described the larval stages of the parasites which belong to the genus *Aphidius* as "drawn from the species which is found parasitizing *Brevicoryne brassicae*" in South Africa. Most probably he was referring to *A. rapae*. SEDLAG (1957, '58) published some short notes about the bionomics, anatomy of the reproductive system, and populations of the parasite. SEDLAG (1958a), during a collecting trip in East Germany in the summer of 1957, has studied the occurrence of the parasites affecting aphids of cruciferous crops. He concluded that *A. rapae* was the only parasite of the cabbage aphid and that the rate of parasitism was sometimes rather high. However, the population of the parasite was generally under a serious influence by the hyperparasites, most important of which were *Charipinae*. The same author (SEDLAG, 1958b) published some notes about the bionomics of the parasite. He stated that *A. rapae* parasitized both *B. brassicae* and *Myzus persicae* and that it comprised about 99.9 % of the total primary parasites emerging from the cabbage aphid. Furthermore, he believed that the effect of the parasite was limited in controlling the cabbage aphid especially in early season because of lack of available hosts at the time the overwintering parasites emerged.

2. TAXONOMY AND NOMENCLATURE

Taxonomic work concerning the parasite and related genera and species has been published by SMITH (1944) in his study on the Aphidiidae of North America and by STARY (1960) who placed the parasite under the new genus *Diaeretiella*. MACKAUER (1961, in press) suggests the new nomenclature *Aphidius* (*Diaeretiella*) *rapae*.

The parasite was first described by CURTIS (1855) in "MACINTOSH's Book of the Garden" as *Aphidius rapae*. Several synonyms have since been used for the same species as follows:

Trioxys piceus Cresson (1880), *Aphidius brassicae* Marshall (1891), *Diaeretus californicus* Baker (1909), *Diaeretus rapae* (Curtis) Gahan (1910).

In a private correspondence, Dr. M. MACKAUER suggested to the writer that in order to complete the list of synonyms, some other names may be in-

cluded. He added that possibly all, or at least some, of the synonyms "represent distinct sibling species, geographical races or biological strains but morphologically they cannot be separated; the different characters used for a separation are all within the range of variation".

The present writer believes that the above mentioned list of synonyms does not by any means constitute a complete one. Most probably when more taxonomical and biological work is done, it will be revealed that many other names represent forms that actually fit within the range of this species.

The name *Diaeretus rapae* (Curtis) has been in general use until quite recently when STARY (1960) came to the conclusion that "the genus *Diaeretus* Forster is monotypic including only the genotype *Aphidius leucopterus* Hal. as it was originally stated by FORSTER in 1862". He then suggested that the other species which were included by various authors in the genus *Diaeretus* should be transferred to other genera of the family Aphidiidae. Furthermore, STARY (1960) described a new genus "*Diaeretiella*" with one single species, *D. rapae*, and so its type species is *Aphidius rapae* Curtis. He added, however, that a revision of the genus *Diaeretiella* is being prepared by him at present to include a group of species that were erroneously placed in the genus *Diaeretus*.

MACKAUER (1961, in press), does not accept this view. He believes that the partially reduced wing venation which characterizes the genus *Diaeretus* (and so genus *Diaeretiella* of STARY) cannot stand to be a generic character of taxonomic reliability within the family Aphidiidae because this type of reduced wing venation can be found in each of the various genera of the family. Besides, all the other main characters, including the female genitalia, in *rapae* are typical to the genus *Aphidius*. Therefore, he concludes that the species should be included in the genus *Aphidius* under a subgenus *Diaeretiella*, and thus its name should be *Aphidius* (*Diaeretiella*) *rapae* (Curtis).

It thus appears that the name *Diaeretus rapae* (Curtis), which has been in common use for about fifty years, should be changed according to the rules of nomenclature. However, the species *rapae* is not quite justified to be included in the new genus *Diaeretiella* and should rather be placed under the subgenus *Diaeretiella* within the genus *Aphidius*.

Since the verification of the name is beyond the scope of the present study, the writer conforms with MACKAUER's views. However, for simplicity, the parasite is indicated briefly as *Aphidius rapae* Curtis.

3. GEOGRAPHICAL DISTRIBUTION

Though the main host, *Brevicoryne brassicae* L., is almost cosmopolitan in its geographical distribution, the parasite *Aphidius rapae* Curtis is only occasionally recorded. Outside Europe (including U.S.S.R.) it is recorded in U.S.A. (including Hawaii), Canada and New Zealand. Actually this does not mean that it does not exist in other areas, but it means that more study is needed on the distribution of the parasite in other localities. The writer believes that it might be as widely distributed as its host *B. brassicae*.

4. HOST RANGE

The parasite has been recorded from the following aphids: *Macrosiphum*

euphorbiae (Thos.) [Syn. *M. solanifolii* (Ashmead)], *Brevicoryne brassicae* (L.), *Myzus persicae* (Sulz.), *Lipaphis erysimi* (Kltb.) [Syn. *Rhopalosiphum pseudobrassicae* (Davis)], *Aphis gossypii* Glov. and *Aphis nasturtii* Kltb. (Syn. *A. abbreviata* Patch).

Its main host, however, is *B. brassicae*, but *Myzus persicae* is also of importance because generally this latter aphid infests the cruciferous crops simultaneously with *B. brassicae*. GEORGE (1957) collected parasitized material of *M. persicae* from cabbage plants and from potato plants adjacent to sprout fields, furthermore he collected other parasitized material of *B. brassicae* from adjacent sprout plants. Without any exception all the primary parasites emerging from *M. persicae* were *Aphidius matricariae* Haliday, while all those emerging from *B. brassicae* were *Aphidius rapae* Curt. SEDLAG (1958b) collected mummies of *M. persicae* from cruciferous crops in East Germany. He obtained 923 primary parasites out of which 11.5% were *A. rapae*.

In The Netherlands, as has already been mentioned on p. 483, about 6000 primary parasites emerging from *B. brassicae* mummies collected in 1959 and 1960 proved to be *A. rapae*. Mummies of *M. persicae* were also collected in two different fields at Wageningen and gave the following primary parasites belonging to four different species: *A. rapae* Curt., *A. matricariae* Haliday, *Aphidius sp.* (near *avenae* Haliday) and *Praon volucre* (Haliday) *myzophagum* Mackauer (table 15).

TABLE 15. Parasites of *Myzus persicae* on two types of crops at Wageningen

Crop	Total number of mummies of *M. persicae* collected	Number of primary parasites emerging		
		A. rapae	*A. matricariae* & *A. avenae*	*Praon volucre*
Brussels sprouts and cauliflower (also infested with *B. brassicae*)	834	277	21	6
Potatoes (far from cruciferous crops and with no *B. brassicae*)	133	21	20	0

Thus it is shown that, in The Netherlands, contrary to the findings of GEORGE (1957) in England and SEDLAG (1958b) in East Germany, *A. rapae* parasitizes *M. persicae* in the field in a greater proportion than other species of Aphidiidae when the host is on cruciferous crops and so associated with *B. brassicae*. When mummies of *M. persicae* were collected on potato plants far from any fields of Cruciferae and with no infestation of *B. brassicae*, about half of the emerging primary parasites were *A. rapae*. Hence it could be stated that, next to *B. brassicae*, *M. persicae* is also an important host for the parasite *A. rapae*.

As host preference is an important feature in host specificity, the question arises as to which of the two hosts is preferred when offered simultaneously to *A. rapae*. The following experiment may clarify this point.

In each of ten glass dishes (plate 1, B), five half-grown nymphs of *B. brassicae* and five half-grown nymphs of *M. persicae* were confined simultaneously. One female of *A. rapae*, about 24 hours old, was placed in each dish for 24 hours.

No plant leaves were provided to eliminate the interference of a possible host plant attraction to either host or parasite. After 24 hours all nymphs were dissected and the number of parasite eggs deposited in each was counted. The results are given in table 16.

TABLE 16. Preference of *A. rapae* for nymphs of *B. brassicae* and *M. persicae*, when offered simultaneously

Female	*B. brassicae*		*M. persicae*	
	No. of nymphs parasitized	No. of eggs deposited	No. of nymphs parasitized	No. of eggs deposited
1	1	1	1	1
2	2	6	0	0
3	5	15	0	0
4	2	3	0	0
5	1	1	1	4
6	1	1	0	0
7	3	4	1	1
8	0	0	0	0
9	4	6	1	2
10	1	1	0	0
Total	20	38	4	8

More nymphs of *B. brassicae* parasitized $P < 0.005$
More eggs deposited in *B. brassicae* $P < 0.005$

These results show that *A. rapae* parasitizes both aphids but it prefers *B. brassicae* more than *M. persicae*.

From the emergence of mummies collected in the field it is concluded that in samples collected in different parts of The Netherlands, *A. rapae* was the only parasite of the cabbage aphid. Furthermore, it also parasitizes *M. persicae* in the field whether the host is on cruciferous crops or on potatoes, but more if on cruciferous plants (see table 15). From the results given in table 16, it is shown that if the parasite is given the choice to parasitize both aphids simultaneously, it parasitizes more individuals and in total deposits more eggs in *B. brassicae* than in *M. persicae*.

The fact that *M. persicae* is parasitized by *A. rapae* is of practical importance, especially during the early generations of the parasite. The infestation of early potato and brussels sprout plants by *M. persicae* helps the parasite to find an appropriate host, in addition to *B. brassicae* on the seed plants, early in the season. Thus it is probable that an early population of the parasite would be built up on those early crops and eventually moves to the new cruciferous crops. Furthermore, the fact that *B. brassicae* is more preferred by the parasite than *M. persicae* is also important, because generally both aphids infest cruciferous crops simultaneously. Hence, more parasitism by *A. rapae* would occur on *B. brassicae* than on *M. persicae*.

5. LIFE HISTORY

A. Development of the parasite

A. rapae is an internal parasite. The female deposits its eggs internally

within the body of the host. It was found in this work that under normal field conditions, the parasite eggs hatched within about 48 to 72 hours. Though more than one egg may be deposited in one individual host and normally all these eggs hatched into first instar larvae, only one larva survived. The other larvae died while still in their first instar. Consequently, only one adult emerged. At first the parasite larva feeds on the body fluids and the adipose tissue so that no external symptoms of parasitism can be recognized. A few days later, however, the growing parasite larva gradually starts to feed also on the host embryos and some of the internal organs. Then, the host aphid, though still alive, shows a sluggish appearance and some change in colour. By the time the parasite larva attains its full grown stage, all the internal contents of the aphid are already consumed and only the thin integument remains and turns into a hardened, straw-coloured, almost hemispherical body; a "mummy". The last instar larva opens a slit in the ventral surface of the host integument and thus fastens the mummy to the plant surface. This is done by means of the threads of the cocoon it starts to spin to line the inside of the host integument. The prepupa discharges the meconium, which is composed of about 10 to 20 shining, black, cigar shaped pellets, and transforms into a pupa. The adult emerges through a small circular hole generally cut dorsally near the posterior end of the mummy. Frequently the circular cap cut off the place of emergence remains hinged to it. The texture of the mummy, the shape and position of the emergence hole and the form of the meconium are characters of importance in differentiating the mummies that had given rise to an *Aphidius* adult from those that contained a secondary or tertiary parasite.

Mating may take place a few minutes after emergence but the female parasite starts ovipositing whether it has mated or not. The parasite is arrhenotokous, so an unmated female gives rise to an all-male progeny.

B. Sex ratio

On the whole females slightly exceed males in number. Out of the mummies of *B. brassicae* collected in 1959, 4321 *A. rapae* emerged; 2601, or 60.2%, of

TABLE 17. Sex ratio of *A. rapae*

Month	Total adults emerged	Percentage of females
June 1959	425	73.4
July	265	64.2
August	185	65.4
September	132	59.1
October	219	59.4
November	27	33.3
December	4	25.0
January 1960	17	23.5
February	112	49.1
March	369	48.0
April	1713	60.2
May	1594	60.5
June	162	60.5
July	416	59.6
August	21	52.4

which were females. Almost the same ratio of females; 782 out of 1297, or 60.3% was obtained in 1960.

Actually the sex ratio has a seasonal variation as it was noticed that males are later in entering diapause and earlier in emerging from the overwintering mummies than females. This trend leads to a decline in the ratio of females in winter and early spring in comparison to other months as shown in table 17.

C. Longevity

A number of newly emerged adults were kept in glass tubes (16 × 4.5 cm) and provided with honey droplets, a piece of cotton wool soaked in water, and a leaflet of brussels sprouts to serve as a hiding place. The tubes were placed in the open air insectary and mortality was recorded daily. The results are summarized in table 18.

TABLE 18. Longevity of adults of *A. rapae*

Time	Females				Males			
	Total no.	Longevity in days			Total no.	Longevity in days		
		Min.	Max.	Aver.		Min.	Max.	Aver.
Early in the season (16–22.III.'60)	19	11	19	14	30	9	20	14
Early in the season (24–30.III.'60)	69	7	16	10.3	65	6	18	10.7
Mid-season (1–5.VII.'60)	79	3	16	7.4	56	3	14	7.4

These results indicate that, under the same conditions, there was no difference in longevity between males and females. In early spring the mean longevity was about two weeks. This period gradually decreased to one week under mid-summer conditions.

Furthermore, 54 females used for oviposition experiments under room temperature, provided with honey droplets, water, sprout or cauliflower leaves, and cabbage aphids for oviposition, lived for 9 days on the average, with a minimum of 4 days and a maximum of 15 days.

D. Fecundity

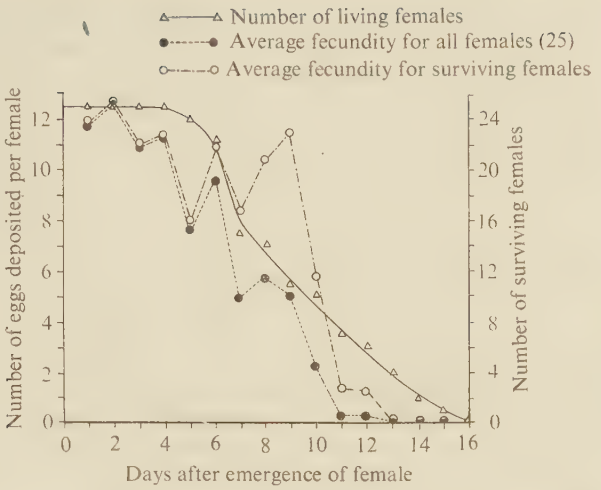
The total number of eggs deposited by one female of *A. rapae* throughout its life was determined by rearing newly emerged females individually in glass dishes (plate 1, B). Ten half-grown nymphs of *B. brassicae* were provided daily throughout the life of the female and were placed on a leaf of cauliflower or brussels sprouts. No filter paper was placed on the bottom of the dish so as to prevent the possibility of some of the nymphs hiding beneath it and escaping the parasite attack. Fine honey droplets were added on the wall of the dish to provide food for the parasite. For facilitating the process of determining the number of eggs deposited, the removed nymphs were reared for two days in similar glass dishes at a temperature of about 25 °C before dissecting them. By that time the parasite eggs had developed into advanced embryos or early first instar larvae and in either case were easier to find than the newly deposited eggs. The results obtained with 25 females are shown in table 19 and fig. 12.

TABLE 19. Fecundity of *A. rapae*

Female	Number of eggs deposited on successive days after emergence															Total no. of eggs
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
1	21	10	17	8	0	0										56
2	4	16	9	1	0	24	15	47	28	17						161
3	7	16	24	10	0	20	1	5	22	14						119
4	7	1	1	3	0	3	3	3	4							25
5	0	5	13	11	0	11	15									55
6	2	11	8	5	13	0										39
7	6	0	4	2	5	12	7	21	10	0						67
8	4	6	3	17	0	0										30
9	11	9	8	4	3											35
10	9	20	11	4	0											44
11	9	6	17	7	0	0										39
12	30	16	11	1												58
13	19	15	16	5	3	1	0	0								59
14	3	12	3	6	5	10	13	0								52
15	14	18	7	0	0	1										40
16	3	20	2	0	2	13	1	4	0	0	0	0				45
17	1	1	0	4	6	10	6	4	3	5	1	1	0	0		42
18	1	6	3	19	15	15	11	18	9	6	3	4	0	0	0	110
19	4	7	15	23	17	20	11	12	16	3	1	0				129
20	13	12	16	15	16	11	7	10	13	6	3	3	0			125
21	11	20	9	10	16	12	15	2								95
22	44	30	18	14	9	9	10	6	7	0	0	0	0			147
23	16	16	10	45	39	32										158
24	30	25	14	17	12	26	9	14	15	7	0					169
25	29	19	35	55	28	9										175
Total	298	317	274	286	189	239	124	146	127	58	8	8	0	0	0	2074
Mean for 25 females	11.9	12.7	11.0	11.4	7.6	9.6	5.0	5.8	5.1	2.3	.3	.3	0	0	0	83
Mean for surviving females .	11.9	12.7	11.0	11.4	7.9	10.9	8.3	10.4	11.5	5.8	1.4	1.3	0	0	0	

From these results it can be concluded that, under the conditions of this experiment, females of *A. rapae* deposited 83 eggs on the average with a maximum of 175 and a minimum of 25 eggs. The maximum number of eggs deposited by a female of *A. rapae* under any condition, as obtained by the writer, was 205. These figures would seem lower than the corresponding figures obtained by other authors for this species and some other related species of the same family. However, the present figures may prove of more practical value as they represent the capacity of ovipositing with regard to the longevity, the searching and oviposition abilities of the parasite and the ability of the host to escape parasite attack. For instance, SEDLAG (1958b) reported that more than 400 ripe eggs were counted in the ovaries of *A. rapae* female. He added that by dissecting the exposed nymphs, he could find at least 207 eggs that were actually deposited. Unfortunately he did not mention the conditions under which he obtained those results. ULLYETT (1938) estimated that a female *Aphidius sp.* can deposit between 300 to 400 eggs during her life time. He added, however, that "this is her biotic potential but it does not follow that she will be able to deposit the full number; premature death may occur or she may not be able to find sufficient hosts". SCHLINGER & HALL (1960) stated that the total number of eggs per

FIG. 12.
Daily rate of oviposition and mortality of *A. rapae*



female of *Praon palitans* Muesebeck ranged from 118 to 194, but these numbers were taken from dissections of the ovaries under the assumption that "when hosts are available, females are capable of depositing their full complement of eggs".

In table 19 it is also shown that in almost all cases, 24 out of 25, females started to oviposit right from the first day after their emergence. However, it was not exceptional that, after few days of oviposition, a female completely stopped the oviposition, or deposited only 1 or 2 eggs per day, for one or more days and then again started to deposit larger numbers of eggs. In general, females deposited more eggs early in their life; 8 to 13 eggs per day were laid during the first nine days. The rate of oviposition then dropped sharply for the following three days. No female oviposited after the twelvth day though one specimen lived as long as 15 days (see fig. 12).

As will be shown later, *A. rapae* deposits indiscriminately in parasitized and non-parasitized hosts, so this trend of daily rate of oviposition is not expected to change much with the change of number of hosts available.

The number of eggs deposited per female per day ranged from a minimum of 0 to a maximum of 55, with a mean number of 10.3 eggs. The frequencies of numbers of eggs deposited daily throughout the life of the females are shown in table 20 and fig. 13.

The data obtained from the last day of life of each female were excluded from the table because it is not exactly known how long within that day the female was still alive. It appears from table 20 that in more than half of the days the females only produced a small number of eggs (10 eggs or less) or did not deposit at all. In only about 10% of the days a female deposited more than 20 eggs per day.

6. SEASONAL HISTORY

A. Hibernation

With the decline in temperature and photoperiod in autumn, *A. rapae* starts

TABLE 20. Frequencies of number of eggs deposited per day per female *A. rapae*[1])

Classes of number of eggs deposited per female per day	Frequency	Percentage
0 eggs per day	23	12.1
1– 5 „ „ „	48	25.1
6–10 „ „ „	40	21.0
11–15 „ „ „	34	17.8
16–20 „ „ „	26	13.6
21–25 „ „ „	7	3.7
26–30 „ „ „	7	3.7
31–35 „ „ „	1	0.5
36–40 „ „ „	1	0.5
41–45 „ „ „	2	1.0
46–50 „ „ „	1	0.5
51–55 „ „ „	1	0.5
Total	191	100.0

[1]) Last day of life of the female is excluded.

to hibernate. Mummies of *B. brassicae* were collected in large numbers twice a week in 1959 and in comparatively smaller numbers once a week in 1960. A high fraction of the mummies collected early in the autumn gave emergence to adult parasites before winter. This rate of emergence gradually decreased

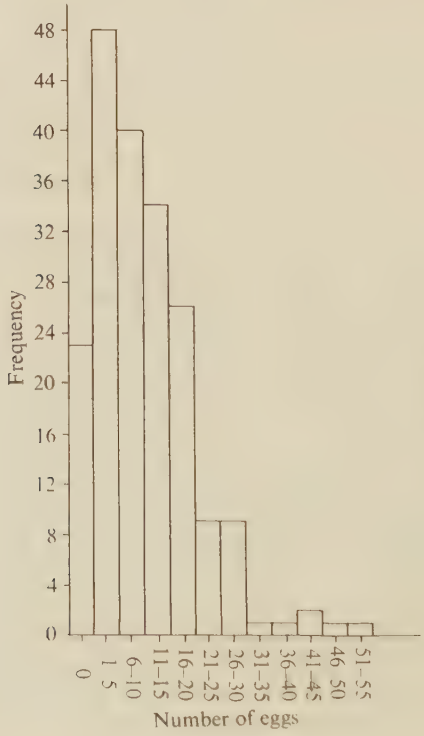


FIG. 13.
Frequencies of number of eggs deposited per day per female *A. rapae*

to reach a minimum in late October, after which very few adults emerged till spring. The first group of mummies with overwintering parasites in 1959 was collected on 26-IX (last autumn adult emerged on 6-X-'59 and first spring adult emerged on 19-IV-'60). In 1960, however, a group of mummies collected on 1-VIII-'60 did not give rise to adult parasites before 9-V-'61 (at least 281 days within the mummies).

The hibernation could easily be broken by exposing the mummies to room temperatures and long photoperiod.

To find out the hibernating stage of the parasite, 150 mummies of the cabbage aphid were collected and dissected once per week starting the middle of November 1959 and continued till late in April 1960 (during January and February collections were made once in two weeks).

The results of the dissections revealed that the parasite hibernates as a last instar larva within the mummy. Until the end of February only seven mummies contained living prepupae or pupae, which presumably emerged during the winter, while 912 mummies contained living last instar larvae. Starting the first week of March, the proportion of pupae, and eventually of emergence, gradually increased till the last overwintering parasite emerged 20-VI-'60 (from mummies collected 7-XII-'59).

In the Netherlands, the cabbage aphid normally overwinters exclusively in the egg stage, all other stages being inevitably eliminated during the winter. Consequently all earlier stages of the parasite die within their perishing hosts and so the parasite hibernates only as a last instar larva inside the mummy.

B. Emergence of hibernating parasites

Actually *A. rapae* emerged under natural conditions in all months of the year, though only in very small numbers in winter. Of 3358 adults which emerged after hibernation from mummies collected between 11-IX-'59 and 29-II-'60, very few emerged in January and the first half of February. Emergence then increased gradually, with the exception that an extraordinary high emergence occurred in the last week of February coinciding with a sudden spell of high temperature. A first peak of emergence occurred in the second week of April and a second peak in the second week of May. Thereafter, emergence of overwintered parasites gradually declined till it ended in the third week of June (See fig. 21). It was not possible to obtain any reliable data from mummies collected during the winter of 1960–1961 owing to the scarcity of mummies available in that period.

It is obvious that the trend of emergence, rather than the exact timing is more important because probably the dates of emergence vary from year to year. The significance of the time of emergence will be discussed later in relation to its coincidence with hatching of the overwintering eggs of *B. brassicae*.

Under natural conditions the early emerged parasites could still deposit some eggs even in November, December and January, if hosts are available for oviposition. This ability, however, is of no practical importance because most probably the hosts perish during the winter months. The fundatrices which hatch in late February and early March are more important. They can also be parasitized, and if they survive the type of weather in early spring, they give rise to the first generation of the parasite. These, together with the parasites emerging

later from the overwintering mummies, may cause an early high rate of parasitism as will be shown later.

C. Number of generations per year

To determine the number of generations of *A. rapae* per year in The Netherlands, the following method was used: A potted cauliflower plant, heavily infested with *B. brassicae*, was placed in a cage (plate 1, A) and an adequate number of both sexes of adult *A. rapae* were introduced into the cage under room temperature for oviposition. Twenty-four hours later, all parasites were removed and the cage was sealed and kept in an open air insectary. The plant was inspected daily and all mummies were carefully removed and kept in glass vials also under outdoor conditions. As has been mentioned before with *B. brassicae*, two series of generations were followed throughout the year. In series A, representing the maximum possible number of generations, a new cage, representing a new generation, was started on the day the first female of the previous generation emerged. In series B, representing the minimum possible number of generations, the last group of females emerging from a previous generation was kept in glass vials in the open air insectary. Every day some aphid nymphs were exposed to the females for oviposition. These nymphs were dissected the next day for parasite eggs. This procedure was continued until the last eggs were deposited. This day marked the extreme end of a generation and a new generation was started the same day. The generations were determined in this way in 1959 starting 18-III-'59 and in 1960 starting 26-II-'60. The results are shown in table 21.

These results show that in The Netherlands the extreme number of generations of *A. rapae* per year varied from 6 to 11 in 1959 (starting 18-III-'59) and 5 to 11 in 1960 (starting 26-II-'60). In 1959 the shortest generation took 14 days in July and August whereas in 1960 it took 16 days in July. Early in the season a generation took a minimum of 37 days, starting March 1959, and of 47 days, starting February 1960. Some of the mummies of the late generations, which mummified from September to January, overwintered and the adults emerged in the following spring. The extreme case was the eleventh generation of 1960 which started 2-XI-'60 and took 110 days for the first adult to emerge.

D. Effect of temperature on the rate of development

Observations indicated that temperature appeared, at least in part, to affect the great variation that occurred in the rate of development of the parasite. An experiment was conducted to determine that effect.

Non-parasitized half-grown nymphs of *B. brassicae* were exposed individually to parasites of *A. rapae* in a glass vial. When the host was observed to be definitely parasitized, it was removed from the vial and placed in a glass dish. Eight to twelve of these newly parasitized nymphs were reared on a cauliflower leaf in each dish (the dishes and the procedure of rearing are similar to that already described on page 456). Three of these dishes, containing a total of 24–36 parasitized nymphs, were placed in each of six chambers of a serial thermal cabinet. The parasitized nymphs were checked daily and mummies were collected and placed in glass vials at the respective temperatures till emergence. In all cases a photoperiod of 16 hours was used. The results are given in table 22 and fig. 3.

TABLE 21. Maximum and minimum number of generations of *A.rapae* in The Netherlands in 1959 and 1960

I. 1959

Generation number	Series A: Maximum number of generations						Series B: Minimum number of generations					
	Date					Duration in days	Date					Duration in days
	Host exposed	First mummy	Last mummy	First adult	Last adult		Host exposed	First mummy	Last mummy	First adult	Last adult	
1	18-III	14-IV	17-IV	24-IV	2-V	37– 45	18-III	14-IV	17-IV	24-IV	2-V	37–45
2	27-IV	12-V	17-V	19-V	25-V	22– 28	3-V	15-V	21-V	21-V	1-VI	18–29
3	19-V	1-VI	6-VI	6-VI	11-VI	18– 23	6-VI	17-VI	28-VI	23-VI	5-VII	17–29
4	6-VI	17-VI	28-VI	23-VI	5-VII	17– 29	9-VII	19-VII	27-VII	23-VII	3-VIII	14–25
5	23-VI	4-VII	8-VII	8-VII	13-VII	15– 20	10-VIII	20-VIII	3-IX	24-VIII	11-IX	14–32
6	9-VII	19-VII	27-VII	23-VII	3-VIII	14– 25	20-IX	4-X	19-X	13-X	16-XI	23–57
7	24-VII	4-VIII	15-VIII	9-VIII	22-VIII	16– 29	26-XI	No mummies. All aphids died during winter				
8	10-VIII	20-VIII	3-IX	24-VIII	11-IX	14– 32						
9	26-VIII	6-IX	17-IX	12-IX	26-IX	17– 31						
10	13-IX	27-IX	12-X	4-X	24-X	21– 41						
11	5-X	24-X	13-XI	21-XI	16-V-'60[1])	47–224						
12	26-XI	No mummies. All aphids died during winter										

II. 1960

1	26-II	4-IV	16-IV	14-IV	12-V	47– 75	26-II	4-IV	16-IV	14-IV	12-V	47– 75
2	20-IV	11-V	18-V	15-V	27-V	25– 37	16-V	31-V	10-VI	6-VI	17-VI	21– 32
3	16-V	31-V	10-VI	6-VI	17-VI	21– 32	24-VI	6-VII	23-VII	12-VII	30-VII	18– 36
4	6-VI	17-VI	25-VI	23-VI	3-VII	17– 27	11-VIII	23-VIII	1-IX	28-VIII	9-IX	17– 29
5	24-VI	6-VII	23-VII	12-VII	30-VII	18– 36	13-IX	27-IX	9-X	6-X	15-V-'61	23–244
6	13-VII	24-VII	1-VIII	29-VII	7-VIII	16– 24						
7	30-VII	10-VIII	24-VIII	17-VIII	31-VIII	18– 32						
8	17-VIII	29-VIII	5-IX	5-IX	15-IX	19– 29						
9	6-IX	18-IX	27-IX	26-IX	8-X	20– 32[2])						
10	26-IX	17-X	25-X	2-XI	14-XI	37– 49[3])						
11	2-XI	17-XII	7-I-'61	20-II-'61	25-IV-'61	110–174						

[1]) Some of the mummies overwintered till following spring.
[2]) One mummy hibernated giving emergence on 12-V-'61, so a duration of 248 days.
[3]) One mummy hibernated giving emergence on 8-V-'61, so a duration of 224 days.

TABLE 22. Effect of different temperatures on rate of development of *A. rapae*

Chamber number	Temperature °C			Duration in days						
				Oviposition to mummification		Mummification to emergence		Oviposition to emergence		
	Max.	Min.	Aver.	Max.	Min.	Max.	Min.	Max.	Min.	Aver.
1	5.5	3	4.5	All died within 29 days without mummification						
2	13	7.5	10.3	28	22	21	15	49	37	43.0
3	16	12	14.5	21	17	11	8	29	25	26.8
4	22	18	19.7	9	8	6	5	14	13	13.5
5	27	24	25.3	7	6	5	3	11	9	10.3
6	32	29.5	30.6	6	6	6	5	12	11	11.3

This experiment showed that temperature plays an important role in influencing the rate of development of the parasite both before and after mummification. However, because *A. rapae* is an internal parasite the effect of temperature before mummification may be indirect due to an effect on the host. After the host has been transformed into a mummy, the effect of temperature must be directly on the parasite.

It was observed that, on the whole, the rate of development as influenced by temperature showed almost the same trend in both *B. brassicae* and *A. rapae*. The duration decreased with an increase of temperature to an apparent optimum, above which there was an indication of a slight increase if the temperature was increased still further (see fig. 3).

When the temperature ranged between 3 to 5.5 C (aver. 4.5 C) all the parasitized nymphs died within 29 days. Another attempt was made at this particular temperature with a new group of 25 parasitized nymphs but they also died within 16 days. On dissection they contained parasite eggs in various stages of development. It was shown on p. 459 that unparasitized *B. brassicae* could not survive at these temperatures also. This might lead to the assumption that the development of the parasite is checked due to the lethal effect of these temperatures on the host. However, when the threshold of development of both *B. brassicae* and *A. rapae* was estimated (fig. 14), the lines indicating the rate of development for both host and parasite at the different temperatures almost coincided. The same threshold, about 6.5 C, is obtained for both species. This indicated that the low temperatures used were lethal for both the cabbage aphid and for the parasite.

With an increase of temperature the rate of development of *A. rapae* increased until it reached a minimum of about 10 days at about 25 C. It has been stated before that, in case of *B. brassicae* a further rise in temperature beyond the optimum reduced its survival rate. In this experiment also, about 90 parasitized nymphs had to be reared at an average temperature of 30.6 C to secure only 16 mummies, whereas all the remaining host individuals died, generally within the first four days. Furthermore, this high temperature had a very detrimental effect on the parasites within the mummies and actually most of the 16 mummies failed to give adults. When such mummies were dissected, they all contained dead parasites still in their last larval instar. This meant that they probably died within less than 24 hours after mummification.

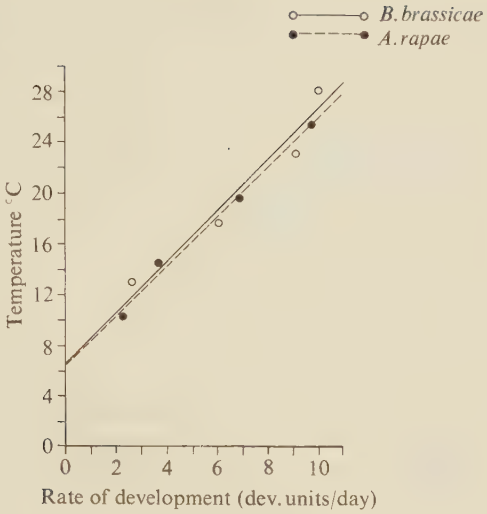


FIG. 14.
Effect of temperature on rate of development of *B. brassicae* and *A. rapae*

Hence, it is obvious that high temperatures seriously affect the parasite in the last larval instar whereas, as mentioned before, this stage is very tolerant to low temperature. In fact it is the only stage that hibernates and survives through winter.

The rate of development of the parasites which survive the detrimental high temperature seems to be prolonged as compared with the apparent optimum. However, owing to the scarcity of emerging individuals, the difference proved not to be statistically significant.

Table 22 shows that the minimum duration of a generation of *A. rapae* was 9 days whereas the maximum was 49 days. Under outdoor conditions this minimum was never achieved and appeared to be 14 days in July and August 1959. The maximum duration of a generation for a non-hibernating parasite under outdoor conditions was 75 days.

CHAPTER VI

HOST-PARASITE INTERRELATIONS

In this chapter, some elements of the parasitism of *A. rapae* and the interrelation between the host and the parasite are studied. This study serves in a discussion of the role of the parasite in regulating the population of the cabbage aphid.

1. OVIPOSITION

A. Preoviposition period

Newly emerged females of *A. rapae* contain a number of complete eggs and start oviposition shortly after emergence, provided an appropriate host is encountered.

The preoviposition period was determined as follows: Just after emergence, ten parasite females were isolated individually in glass vials (16 × 4.5 cm) with colonies of *B. brassicae* on leaves of cauliflower. The time between emergence and the first deposited egg (confirmed by dissection of the host) was recorded in every case. Temperature ranged between 18 and 21.5 C, average about 20 C. The results showed that the period between emergence and deposition of the first egg is rather short, ranging from about 20 to 111 minutes with an average of 48 minutes. Subsequently, oviposition proceeded with very short intervals. In five cases the time which elapsed between the first and the second egg was recorded; the range was from 1 to 24 minutes, average about 8 minutes.

B. Behaviour during oviposition

The process of oviposition is similar to that of related species, the abdomen of the female parasite is bent anteriorly beneath the thorax and between the legs to reach well in front of its head. The ovipositor is then inserted with a quick movement and an egg is deposited in the host. Thus, in most cases, the ovipositing female remains within some distance of the host and contacts it only with the ovipositor.

To observe the reaction of the parasite to the host over an extended period of time, several one-day old parasite females which had no previous access to hosts, were isolated individually in glass tubes with a cauliflower leaf heavily infested with *B. brassicae*. Each female was observed for six successive hours and the observations are summarized as follows:

The parasite generally finds its host within a few minutes. Normally, several unsuccessful attempts to oviposit precede an actual oviposition. Early in the exposure period, the parasite deposits its eggs in succession interrupted by short intervals of rest. Sometimes eggs are deposited less than one minute apart, either in the same host or in different hosts. After one or two hours, however, the rate of oviposition slows down, the parasite takes longer rests and walks around, sometimes even encounters the aphids without reacting to them. Few hours may elapse before the parasite tries to oviposit again. In the second period of active oviposition, the parasite deposits a smaller number of eggs, usually with longer intervals between ovipositions. Then it stops again and acts as mentioned above. These periods of gradually decreasing oviposition and gradually increasing intervals of rest alternate several times. After a few periods of active oviposition the parasite goes to hide for one or more hours, usually on the lower surface of the leaf. Under field conditions other appropriate sites for hiding will be present. The periods of "inactivity" are spent in walking around, cleaning its antennae, legs, wings and tip of abdomen or simply resting with no apparent movement. Sometimes, especially towards the end of the observation period, the parasite seems indifferent to the host, flying or walking to a place far from the host colonies, such as the glass walls or an uninfested part of the leaf, where it stays still and/or walks around for hours.

Since *B. brassicae* normally occurs in colonies in the field, the movements of the parasite in oviposition could be better studied by offering the host in colonies. Thus a disc was cut from a cauliflower leaf infested with colonies of *B. brassicae* and was fitted into the bottom of a petri dish. A cellophane paper was

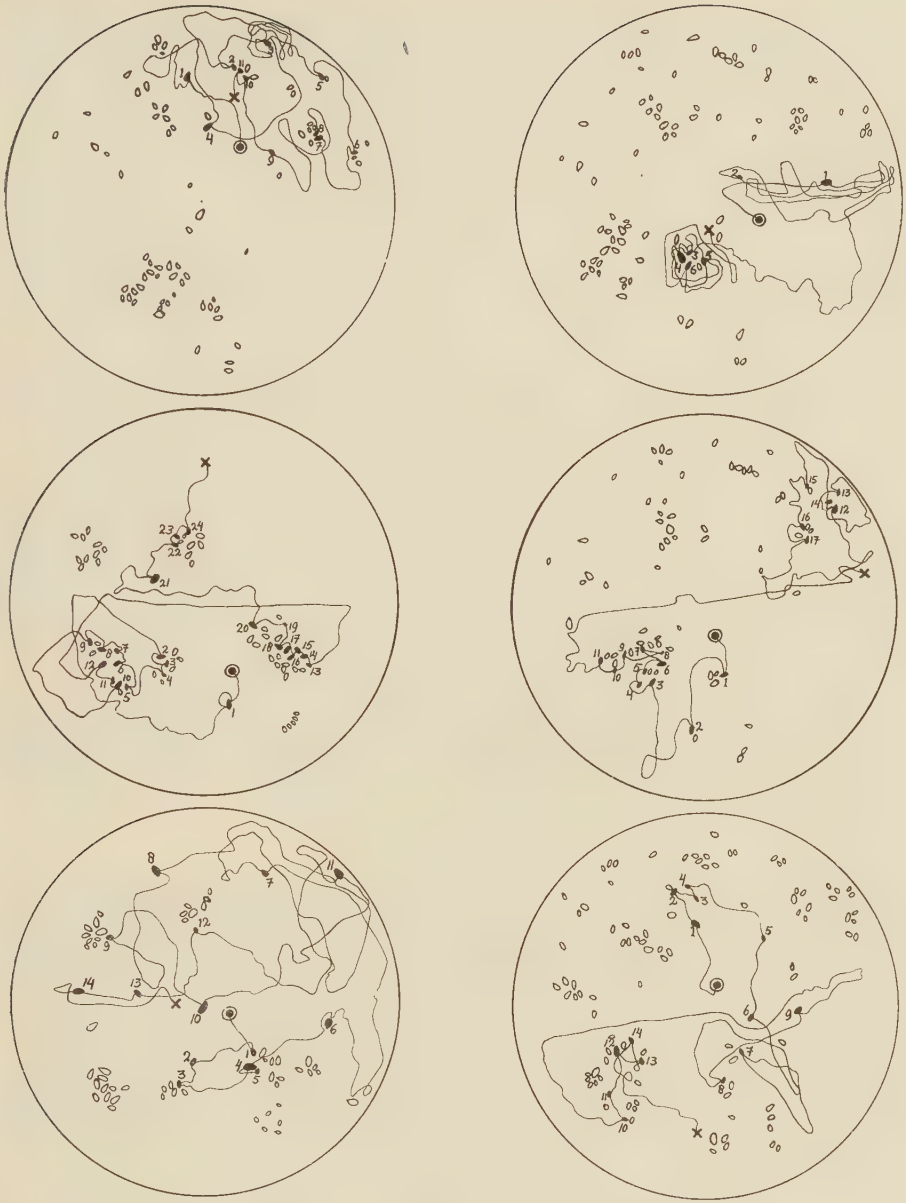


FIG. 15. Diagrams showing movements of female *A. rapae* in colonies of *B. brassicae*. Numbers indicate the sequence of apparently parasitized aphids

placed on the glass top of the dish and the position of colonies and individuals were marked on it. A parasite female of about one day old was introduced into the dish and its movements were recorded for 30 minutes on the cellophane paper. The results obtained with six females are shown in fig. 15.

It could be concluded from the diagrams of fig. 15 and the observations made during the experiments that generally the parasite percieves the host only at a very short distance. Even when it passes a host within one or two millimeters the parasite still might go its way without being attracted to it. Apparently the parasite does not react to the host till it nearly contacts it, almost invariably with the antennae first. Because of this lack of long-distance perception, the parasite is no more attracted to a colony than to an individual aphid. Similarly it is not attracted to a certain size of the host more than to another. However, there is always more chance that the parasite will encounter a colony because of its larger size. Once it encounters such a colony, there is more chance for other individuals within the same colony to be also encountered and so a parasite moves from one host to another in the same colony. However, it leaves the colony without having encountered all its individuals and it may also leave the colony after encountering only one individual. After having infested a certain host, the parasite may move around this host within a short distance. This behaviour could be interpreted as being an adaptation to the colony life of the host. In doing so, the chance to find another individual of the same colony increases considerably. However, in some cases it leads to a second meeting with the same host and superparasitism will generally be the result.

It was also confirmed in this series that once a host is encountered, several oviposition attempts are made before an actual oviposition takes place. This point will be illustrated numerically later in this chapter. Moreover, several actual ovipositions may occur in the same individual before the parasite finally leaves it.

C. Number of eggs per insertion of ovipositor

Three hundred and seventeen nymphs of *B. brassicae* were exposed individually to a few female parasites and when a single insertion, apparent insertion, or even an attempt to insert took place, the host was immediately removed before any other oviposition could occur. Upon dissection of those hosts, 206 out of the original 317 proved not to be parasitized. Each of the remaining 111 nymphs had one parasite egg only. This is in accordance with the general opinion concerning related parasites, though Schlinger & Hall (1959) have stated in the case of *Trioxys utilis* Muesebeck that "normally one egg is deposited per insertion of the ovipositor but occasionally 2 to 4 may be deposited".

2. HOST PREFERENCE

A. Discrimination between parasitized and non-parasitized hosts

It was of importance to investigate whether or not the parasite oviposits indiscriminately in parasitized and non-parasitized hosts. For this purpose, ten newly emerged female parasites were reared individually in glass dishes and each was given 20 half-grown nymphs of *B. brassicae* per day throughout its life. The nymphs were removed daily and dissected in order to count the num-

TABLE 23. Distribution of eggs of *A. rapae* within 20 host individuals as compared with a binomial distribution

No.	Total no. of eggs	No. of nymphs with									P[2]
		0 eggs	1 egg	2 eggs	3 eggs	4 eggs	5 eggs	6 eggs	7 eggs	8 eggs	
1	18	8 8.0	7 7.6	4 3.4	1 1.0	0 [1] 0.2[1]					0.75
2	41	5 2.4	5 5.2	3 5.6	3 3.8	2 1.8	1 0.8	0 0.2	0 0.0	1 0.0	0.20
3	13	9 10.2	9 7.0	2 2.2	0 0.4						0.35
4	34	6 3.4	6 6.2	2 5.4	4 3.0	1 1.2	0 0.4	0 0.0	0 0.0	1 0.0	0.12
5	10	11 12.0	8 6.4	1 1.4	0 0.2						–[3]
6	10	14 12.0	3 6.4	2 1.4	1 0.2						–[3]
7	25	9 5.6	4 7.2	5 4.6	0 1.8	0 0.6	1 0.2	1 0.0			0.15
8	13	13 10.2	2 7.0	4 2.2	1 0.4						0.01
9	22	4 6.4	10 7.4	6 4.2	0 1.4	0 0.4					0.18
10	14	9 9.8	8 7.2	3 2.4	0 0.6						0.70
11	15	7 9.2	11 7.4	2 2.6	0 0.6						0.10
12	18	4 8.0	14 7.6	2 3.4	0 1.0	0 0.2					0.01
13	42	0 2.4	11 5.2	2 5.6	2 3.8	4 2.0	1 0.8				0.01
14	18	6 8.0	10 7.6	4 3.4	0 1.0	0 0.2					0.25
15	32	2 3.8	7 6.6	8 5.4	3 2.8	0 1.0	0 0.4				0.30
16	31	3 4.0	8 6.6	6 5.2	2 2.6	0 1.0	1 0.2				0.65
17	22	3 6.4	14 7.4	2 4.2	0 1.4	1 0.4					0.01
18	33	1 3.6	8 6.4	8 5.4	3 3.0	0 1.2	0 0.4				0.15
19	12	10 10.8	8 6.8	2 2.0	0 0.4						0.60
20	10	10 12.0	10 6.4	0 1.4	0 0.2						–[3]
21	11	12 11.4	5 6.6	3 1.8	0 0.2						–[3]

TABLE 23 continued

No.	Total no. of eggs	No. of nymphs with									P[2])
		0 eggs	1 egg	2 eggs	3 eggs	4 eggs	5 eggs	6 eggs	7 eggs	8 eggs	
22	13	11	6	2	1						0.70
		10.2	7.0	2.2	0.4						
23	43	1	4	7	7	1	0	0			0.20
		2.2	5.0	5.6	4.0	2.0	0.8	0.2			
24	29	0	12	7	1	0	0				0.01
		4.6	6.8	5.0	2.4	0.8	0.2				
25	44	3	4	5	4	2	2	0			0.95
		2.0	4.8	5.4	4.0	2.2	1.0	0.4			
26	28	2	8	10	0	0	0				0.01
		4.8	7.0	5.0	2.2	0.8	0.2				
27	14	9	8	3	0						0.70
		9.8	7.2	2.4	0.6						
28	18	8	8	2	2	0					0.75
		8.0	7.6	3.4	1.0	0.2					
29	38	1	4	11	4	0	0	0			0.02
		2.8	5.6	5.6	3.6	1.6	0.6	0.2			
30	20	8	5	6	1	0					0.20
		7.2	7.6	3.8	1.2	0.2					
31	24	3	11	5	1	0	0				0.15
		5.8	7.4	4.4	1.8	0.4	0.2				
32	21	6	10	1	3	0					0.25
		6.8	7.6	4.0	1.4	0.4					
33	81	0	3	1	4	3	3	5	1	0	0.70
		0.3	1.4	2.9	4.0	4.1	3.3	2.2	1.2	0.6	
34	30	8	5	1	3	2	0	1			0.02
		4.2	6.8	5.2	2.6	1.0	0.2	0.0			
35	23	8	4	5	3	0					0.15
		6.2	7.4	4.4	1.6	0.4					
36	14	10	6	4	0						0.45
		9.8	7.2	2.4	0.6						
37	14	13	5	0	0	1	1				0.17
		9.8	7.2	2.4	0.6	0.0	0.0				

[1]) In each pair of frequency distributions, the first line represents the actual distribution observed in the experiment and the second line represents the expected values as calculated from a binomial distribution.

[2]) P is the probability to obtain the observed egg distribution over the twenty host nymphs, or an equally or less probable distribution, assuming that the null-hypothesis: "Oviposition occurs at random" is true. The obtained values of P are based on X^2-tests for goodness of fit of the observed distribution with the best fitting binomial distribution. In case of low frequencies, several classes had to be combined before the test could be used.

[3]) In these cases X^2-tests could not be used; after the necessary combination of classes, the number of degrees of freedom (= K-2) was zero.

ber of parasite eggs deposited. Since it has been shown before that females of *A. rapae* deposit only one egg per insertion, so the total number of eggs indicates the total number of ovipositions. Only cases in which a total number of 10 or more eggs were deposited by one female in one day were used to test the fitness of their egg distribution with a random distribution. Under these conditions, a binomial distribution was taken as the most appropriate approximation for a random distribution. The results of 37 cases are shown in table 23.

These results show that it was not possible to reject the hypothesis that, within the exposed twenty host individuals, the number of eggs per host followed a binomial distribution. This means that, given the choice to deposit in any of the exposed 20 individuals, the females did not discriminate between parasitized and non-parasitized hosts. If the parasites completely discriminated, all the parasitized hosts would have fallen into one class only; hosts with *one* parasite egg. Furthermore, if the parasites even partly discriminated, there would have been a tendency for a higher number of hosts with one parasite egg than is expressed by the binomial distribution. Both cases were found not to be true in *A. rapae*.

This conclusion is further supported by the data obtained from the fecundity of 25 female parasites described above (page 491). In that experiment a total of 977 nymphs of *B. brassicae* were parasitized and the number of eggs per host were distributed as shown in table 24.

TABLE 24. Frequencies of numbers of parasite eggs per nymph of *B. brassicae*. Result of 25 female parasites each given 10 host nymphs per day

Number of parasite eggs per host individual	Frequency	Total eggs deposited	Eggs deposited in unparasitized hosts	Eggs deposited in parasitized hosts
1	436	436	436	0
2	279	558	279	279
3	125	375	125	250
4	67	268	67	201
5	33	165	33	132
6	15	90	15	75
7	8	56	8	48
8	8	64	8	56
9	2	18	2	16
10	2	20	2	18
11	1	11	1	10
13	1	13	1	12
Total	977	2074	977	1097

It is shown that a total of 2074 eggs were deposited, out of which 1097 eggs were deposited in already parasitized hosts.

When only one host individual was exposed to one female parasite for 24 hours, superparasitism was inevitably accelerated and a maximum of 28 eggs were found in one host.

All above mentioned data were collected under laboratory conditions and with only one female parasite depositing at a time. Superparasitism also occurs in the field either by the same parasite or by several parasites. By dissecting

several thousand individuals of *B. brassicae* collected in the field, a maximum of 13 first instar larvae of the parasite (one alive and 12 dead) were found in the same host individual.

All this superparasitism is a waste for the parasite since, as has been mentioned before, only one parasite larva can survive.

B. Preference of the parasite to different stages of the host

Since normally the cabbage aphid lives in colonies, all the stages of the aphid are as a rule exposed simultaneously to the parasite throughout the main part of the season. Therefore a study was made of the parasite preference for oviposition in different stages of the host.

1. Method: Since the parasite oviposits in a moving host, in contrast to other species of parasites which oviposit in stationary hosts such as eggs or pupae, and since the preliminary trials to glue the host individuals to render them immobile did not succeed, a method had to be devised to obtain the information from a group of host individuals rather than from single individuals.

The bottom of a petri dish was covered with a cauliflower leaf on which ten apterous adults of *B. brassicae* plus ten individuals of another stage were placed simultaneously. The aphids were left for a few minutes till they settled down in an approximately random distribution. Then one female of *A. rapae*, about one day old, that had been fed on honey droplets, was introduced into the dish. Contacts of the female with any of the aphids of either stages were recorded for half an hour and classified into three categories: Mere encounters, encounters followed by oviposition attempts and encounters followed by oviposition attempts resulting in actual oviposition as revealed by dissection.

Due to the fact that the parasite deposits only one egg per insertion (see p. 502), the number of successful attempts can be determined from the number of eggs present in the host.

Ten replicas were made in each case. The apterous females were taken in all cases as a standard for comparison and so the following combinations were made for testing the preference of the parasite:

A. Apterous females and young nymphs
B. Apterous females and half-grown nymphs
C. Apterous females and advanced nymphs
D. Apterous females and alate females

2. Results and discussion: The results are summarized in tables 25 and 26.

The first point to be considered is the difference in encounters. It has been stated (p. 502) that searching parasites make random movements on the substrata. Hence, the encounter with a host is merely a matter of chance. Nevertheless, there were significant differences between the various stages of the host encountered by the parasite. This phenomenon is presumably due to the fact that the hosts exposed simultaneously differ in size. The most pronounced difference was observed between young nymphs and apterous adults. The distinction disappears when the various stages were of equal size such as between apterous and alate adults. When these stages were exposed to parasite attack, the probability of being encountered proved to be the same (table 26).

TABLE 25. Preference of the parasite *A. rapae* to different stages of *B. brassicae*

	Combination A			Combination B			Combination C			Combination D		
	Apterous adults	Young nymphs	Total	Apterous adults	Half-grown nymphs	Total	Apterous adults	Advanced nymphs	Total	Apterous adults	Alate adults	Total
Number of encounters	256	154	410	291	271	562	233	180	413	217	215	432
Number of encounters with another host with oviposition attempt	146	87	233	120	133	253	110	95	205	111	90	201
Number of eggs deposited . .	50	63	113	45	95	140	45	52	97	40	19	59
Number of exposed hosts parasitized	37	51	88	34	64	98	34	39	73	33	7	40

TABLE 26. Preference of the parasite *A. rapae* to different stages of *B. brassicae*

	Combination A		Combination B		Combination C		Combination D	
	Apterous adults	Young nymphs	Apterous adults	Half-grown nymphs	Apterous adults	Advanced nymphs	Apterous adults	Alate adults
Percentage of total encounters	62.4	37.6**	51.2	48.8	56.4	43.6**	50.2	49.8
Percentage of effectiveness of encounters	8.7	34.1**	8.6	25.8**	11.4	16.9*	11.5	7.5
Percentage of effectiveness of oviposition attempts	10.7	53.4**	12.9	41.3**	16.6	23.3+	16.5	14.8
Percentage of exposed hosts parasitized	37	51	34	64**	34	39	33	7*
Percentage of total eggs deposited . . .	44.2	55.8	32.1	67.9**	46.4	53.6	67.8	32.2**

** Difference is highly significant ($P < .001–.01$)
* Difference is significant ($P < .05$)
+ Difference is nearly significant ($.05 < P < .10$)

However, under field conditions in most cases the different stages occur together in colonies and, consequently, if a colony is encountered by a parasite, the individual hosts within the colony will have more chance to be encountered regardless of their stage.

The second point to be studied deals with the fact that once the parasite has contacted a host individual, there might be a difference in the reaction of the parasite to the various stages of the host. Having encountered the host, the parasite may either start its oviposition attempts or reject the host without trying to oviposit. The latter phenomenon occurred in 43%–59% of the cases regardless of the stage of the host. There were no significant differences between the various stages. This indicates that rejection of the host without any attempt to oviposit is caused by some factor intrinsic to the parasite.

The host may also be rejected after oviposition attempts have been made. In this respect considerable differences between the various stages of the host proved to exist. To illustrate this phenomenon the effectiveness of encounters has been calculated. This term is defined as:

$$\frac{\text{Total number of actual ovipositions}}{\text{Total number of encounters}} \times 100\% = \frac{\text{Total number of eggs deposited}}{\text{Total number of encounters}} \times 100\%$$

The values of this index have been given in table 26. For apterous adults the index ranged from 8.6% to 11.5%; alate adults were even less infected (7.5%). The nymphs, however, were significantly more succesfully parasitized; the fractions of encounters resulting in oviposition were 34.1% for the young nymphs, 25.8% for the half-grown nymphs and 16.9% for the advanced nymphs.

These facts may be explained by assuming a preference of the parasite to oviposit in earlier stages of the host. However, the observations made on the females during the process of oviposition showed that the attacked hosts made frantic movements to scare off the parasite. The effect of these movements increased with the development of the host stage. This means that an oviposition in a more advanced stage of the host requires a higher number of oviposition attempts. This phenomenon has been expressed in terms of the effectiveness of oviposition attempts, which is an index defined as:

$$\frac{\text{Total number of actual ovipositions}}{\text{Total number of oviposition attempts}} \times 100\% = \frac{\text{Total number of eggs deposited}}{\text{Total number of oviposition attempts}} \times 100\%$$

The values of this index have also been given in table 26. It decreased from a high value, 53.4%, for young nymphs to 10.7%–16.6% for apterous adults.

The results strongly support the view that the movements made by the adult hosts attacked are more effective as to scaring off the attacking parasite. Another possible explanation, however, is the ability of the parasite to pierce the thin cuticle of a young host more easily than the thicker cuticle of a more advanced host.

To sum up, the experiments show that, proceeding from small to large host

stages, the probability of being encountered increases, but the chance of being parasitized, once being encountered, decreases. Due to these opposite effects the half-grown nymphs run the highest risk of being parasitized. An index of the comparative number of hosts parasitized and number of eggs deposited in each of the five aphid stages was calculated from the data obtained in these experiments and is shown in table 27.

TABLE 27. Index of parasitized host individuals and parasite eggs deposited in five different stages of *B. brassicae*

Stage	No. of parasitized host individuals	No. of parasite eggs deposited
Half-grown nymphs	100	100
Young nymphs	73	60
Advanced nymphs.	61	55
Apterous adults	53	47
Alate adults	11	22

The experiments also show that, even if the hosts are encountered at random, the final process of oviposition and parasitism is not accomplished at random. The deliberate actions of both host and parasite interfere with that process so that some stages of the same host species would have more parasitism and recieve more parasite eggs than some other stages.

It is also shown that the alate adult is the stage which is less preferred for parasitism; less individuals are parasitized and less parasite eggs are deposited in them. This conclusion is of practical importance because of its relation to the dispersal of the parasite (see p. 517).

3. EFFECT OF PARASITISM IN DIFFERENT STAGES OF HOST ON BOTH HOST AND PARASITE

Since it had been shown that there is a decisive tendency for some stages of the host to be parasitized more than other stages, the next logic step was to study the effects of parasitism in different host stages on both host and parasite.

A. Methods

In case of the series of experiments concerning the apterous forms, a group of newly born first instar nymphs of *B. brassicae* or newly moulted individuals of second, third, and fourth nymphal instars and apterous adults, were exposed individually to the parasite and kept under observation until each individual was definitely parasitized. Fourty of these parasitized aphids of each instar were confined in 8 glass dishes (plate 1, B) so as to have a group of five individuals per dish. However, 80 first instar nymphs were used because they are normally more delicate to handle. The same number of non-parasitized aphids of the same age of the five developmental stages were also confined in similar dishes for control. It was ascertained that the newly moulted apterous adults, either parasitized or non-parasitized, had not deposited any nymphs before they were included into the experiment. The aphids were reared on cauliflower leaves as described on p. 456. The dishes were kept under room conditions starting 21-VII-'60.

The same procedure as is mentioned with the apterous forms was followed with the alate forms, but with the following minor differences:

1. Because the alate nymphs could not be distinguished before the third nymphal instar, only third instar nymphs, fourth instar nymphs and alate adults were used.

2. Because the alate forms were found to have a higher mortality under the conditions of the experiment than the apterous ones, 50 nymphs in 10 dishes, instead of 40 in 8 dishes, were used in each case of the two nymphal instars.

3. Because the alate adults were known from previous experiments to have a rather high initial mortality, 40 adults were used in each case (parasitized and non-parasitized); they were isolated individually in dishes and so it was possible to exclude from the experiments all the adults, whether parasitized or non-parasitized, which died within the first three days.

4. This series was also kept under room conditions but as it started rather late (on 26-X-'60) a period of 16 hours of day light was given.

All dishes of both series were checked daily for moulting of the aphids, number of nymphs deposited and mummification. The mummies were removed, kept individually in glass vials and checked daily for emergence. The body length of emerging adult parasites was measured. The emerging females were fed on honey droplets and water for three days after which they were dissected to determine the number of ovarian eggs. This number was used as an index for the reproductive capacity.

B. Results and discussion

The results of these series of experiments are summarized in tables 28 to 31 and fig. 16 and 17.

These results show that the stage parasitized has important effects on both host and emerging parasite.

1. Effects on the host: It has been found that a parasitized *B. brassicae* still developed and moulted till it attained the fourth nymphal instar or the adult stage before it mummified. If the host was parasitized as first or second instar nymph, all mummification took place in the fourth nymphal instar (with the exception of only one individual in each case which mummified as an adult). If the host was parasitized as third or fourth instar nymph or as adult, the mummification took place in the adult stage. The same holds true in the winged forms, because all the mummies obtained from hosts parasitized in the third and fourth nymphal instars and in the adult stage were mummified alate adults with fully developed wings (plate 2 B, d). This means that the mummies collected in the field with abortive wing pads (plate 2 B, b and c) must have originated from nymphs destined to develop to alatae but were parasitized in the first and second nymphal instars. Hence, any parasitized *B. brassicae*, alate or apterous, mummifies in the fourth nymphal instar or as an adult.

Another effect of parasitism on the host was a general increase of the duration of development as compared to a non-parasitized aphid (fig. 16). This was especially true in case of hosts parasitized early in their immature stages because hosts parasitized in the third and fourth nymphal instars attained the adult stage before the parasite reached a stage that can seriously influence them. In such cases there was no significant differences in the duration of the nymphal

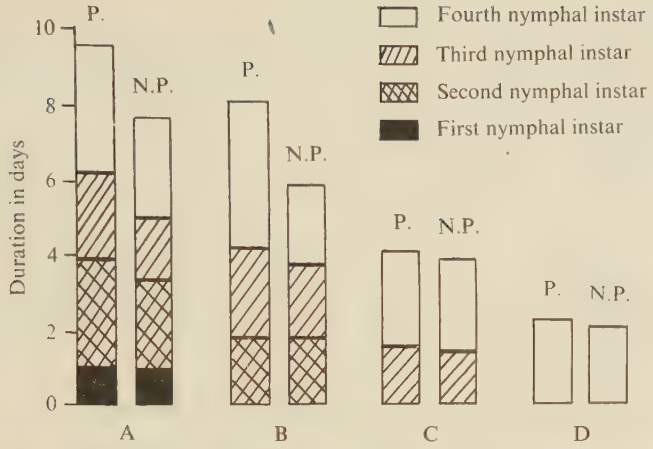


FIG. 16. Effect of parasitism in different stages on rate of development of *B. brassicae*. P, parasitized; N. P, non parasitized for control; A, parasitized in the first nymphal instar; B, parasitized in the second nymphal instar; C, parasitized in the third nymphal instar; D, parasitized in the fourth nymphal instar

TABLE 28. Effect of parasitism in different stages of *B. brassicae* (apterous forms) on its rate of development

Host stage	Mean rate of development of host (days)							
	parasitized in first instar	non-parasitized	parasitized in second instar	non-parasitized	parasitized in third instar	non-parasitized	parasitized in fourth instar	non-parasitized
First instar . .	1.17	1.06						
Second instar .	2.74	2.29	1.87	1.85				
Third instar .	2.28	1.67	2.26	1.92	1.56	1.44		
Fourth instar .	3.29	2.63	3.92	2.05	2.48	2.40	2.22	2.03
Total rate of development up to adult	9.48[1])	7.65	7.05[1])	5.82	4.04	3.84	2.22	2.03

[1]) Up to mummification because they mummified in the fourth instar.

TABLE 29. Total number of nymphs deposited per parasitized and non-parasitized adult of *B. brassicae* (Apterous and alate forms)

Stage of host when parasitized	Average no. of nymphs deposited per adult	
	Parasitized	Non-parasitized
Early third nymphal apterous instar	0.0	34.9
Early fourth nymphal apterous instar	3.3	
Early apterous viviparae	10.3	
Early third nymphal alate instar	0.7	23.4
Early fourth nymphal alate instar	3.2	
Early alate viviparae	8.2	

TABLE 30. Effect of stage of parasitized *B. brassicae* (apterous forms) on the parasite *A. rapae*

Stage of host when parasitized	Rate of development of parasite females (days)			Aver. body length of emerging female in mm	Aver. no. of eggs in ovaries of emerging female
	From oviposition to mummification	From mummification to emergence of adult	Total rate of development from oviposition to emergence of adult		
Early first nymphal instar	9.5	4.7	14.2	2.33	176
Early second nymphal instar . .	8.3	4.8	13.1	2.33	173
Early third nymphal apterous instar	7.6	4.7	12.3	2.39	197
Early fourth nymphal apterous instar	7.5	4.3	11.8	2.40	203
Newly moulted apterous adult . .	7.5	4.5	12.0	2.43	213

TABLE 31. Effect of stage of parasitized *B. brassicae* (alate forms) on the parasite *A. rapae*

Stage of host when parasitized	Rate of development of parasite females (days)			Aver. body length of emerging female in mm	Aver. no. of eggs in ovaries of emerging female
	From oviposition to mummification	From mummification to emergence of adult	Total rate of development from oviposition to emergence of adult		
Early third nymphal alate instar .	12.4	7.7	20.1	2.2	216
Early fourth nymphal alate instar	11.5	7.4	18.9	2.1	195
Newly moulted alate adult . . .	12.2	8.2	20.4	2.1	163

stage between a parasitized and a non-parasitized aphid. In the case of apterous forms, a nymph parasitized early in the first instar took an average of about 9.5 days before it finally mummified late in the fourth instar (see table 28), whereas a similar non-parasitized nymph took only about 7.5 days to reach the adult stage. The difference between the duration of development in each nymphal instar of parasitized and non-parasitized nymphs persisted in each instar with increasing magnitude, due to the gradual development of the larva of the parasite. The difference in duration of the first instar was nearly significant ($0.05 < P < 0.10$) whereas it was highly significant ($P < 0.001$) in later instars.

Nymphs parasitized early in the second instar showed no significant difference in the average duration of the second instar compared with non-parasitized nymphs whereas the difference was significant ($P < 0.05$) in later instars (see table 28 and fig. 16).

Thus it could be concluded that, if first or second nymphal instars of *B. brassicae* are parasitized, the duration of development increases in comparison to the non-parasitized nymphs.

Parasitism had also an important effect on the rate of reproduction of the host. As has been mentioned before, a nymph parasitized in the first or second instar will mummify before it reaches the adult stage and so its power of increase will be entirely eliminated. A nymph parasitized in the third instar will develop into an adult before it mummifies. However, the ovaries of these adults would have been destroyed by the parasite to such an extent that their reproductive capacity can be considered as being practically eliminated. In case of the apterous adults parasitized early in the third nymphal instar no reproduction occurred while in case of alate adults they deposited an average of 0.7 nymphs before they mummified (table 29).

Nymphs parasitized in the fourth instar moulted into adults and started depositing some of their progeny before they finally succumbed. However, the number of nymphs deposited was very low as compared with normal reproduction (table 29). It was observed during the experiment that such parasitized apterous adults could deposit till a minimum of 3 days before mummification, whereas in case of alatae the adult succumbed earlier and the last nymph was deposited six days before mummification.

The hosts parasitized as early adults had more capacity to deposit nymphs before they mummified. Thus on the average both parasitized apterous and alate adults were able to deposit about one third of the normal number of nymphs deposited by the non-parasitized controls (table 29). Though in some cases deposition of nymphs continued till 3 or 4 days before mummification, it was observed that in most cases parasitized adults stopped deposition some time earlier, while the parasite was still in an early stage and did not grow old enough to consume or injure all the embryos or the internal organs of the mother. Presumably the young parasite larva can exert an inhibiting influence on the reproduction of the host. The daily rates of reproduction of both parasitized and non-parasitized adults are shown in fig. 17.

The above discussion concerns the early moulting adults. However, since the host is readily parasitized in the adult stage, it is most probable that parasitism can take place indiscriminately regardless of the age of the parasitized adult and thus all age groups have the same chance to be parasitized. Hence, it might be possible that some adults, if parasitized late enough, escape the effect of

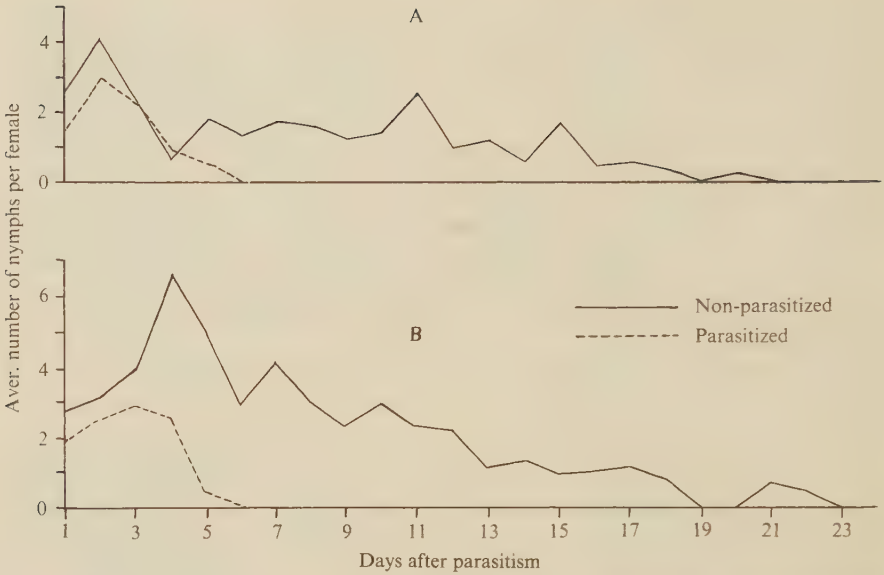


FIG. 17. Daily rate of reproduction of parasitized and non-parasitized *B. brassicae*; parasitized as early adults. A, alate virginoparae; B, apterous virginoparae

parasitism since they would have deposited most of their offspring before the inhibiting effect of the parasite was felt. This "escape" should be even more conspicuous in the alatae because their reproduction is more concentrated in the initial part of the adult life than that of the apterae (see fig. 4 and 5).

The capacity of a parasitized host to reproduce has a bearing on the economic importance of the parasite and should be taken into consideration in any mathematical model of host-parasite interactions.

2. Effects on the parasite: The three main properties of the parasite which are probably affected by the stage of the host are:

1. Size of the emerging parasite (as indicated by the body length).
2. Rate of development of the immature stages; i.e. the period between oviposition and emergence of adult.
3. Fecundity of the emerging female. This property was indicated by the number of eggs present in the ovaries of the female three days after its emergence and without any access to hosts.

Because the effect on the female of the parasite is most relevant and because the results have shown that there is no significant difference in the duration of development between males and females, only the effects on females are discussed here.

As for the size of the female parasites, no significant differences were found as a result of the stage of host parasitized (tables 30 and 31).

Concerning the rate of development, the results show that the duration of the immature forms took longer when parasitism started in the first nymphal instar

and that it gradually decreased with significant differences between the stages parasitized (tables 30 and 31). The shortest duration of development of the parasite was reached when the aphid was parasitized in the fourth nymphal instar. Further, when the apterous or alate adult was parasitized, most probably the duration of the parasite development increased again. Compared with parasite development in the fourth nymphal instar, the increase of the mean rate of development is nearly significant ($0.05 < P < 0.10$) in case of the apterous and significant ($P \leqslant 0.05$) in case of the alate adults.

It is of importance to note that when the duration of parasite development is divided into two successive periods, *viz.* from oviposition to mummification (a feeding stage occurring inside the living host) and from mummification to emergence (a non-feeding stage occurring inside the mummy), the latter period proved to be independent of the host stage parasitized. The former period, however, was longest when parasitism started in the first instar and gradually decreased with the development of the host when parasitized till the fourth nymphal instar. Further, when the host was parasitized in the adult stage, the duration of the former period of the parasite either remained as it was in the fourth instar (in apterae) or slightly increased again (in alatae) (tables 30 and 31).

It might be suggested that, other factors being equal, the duration of the immature stages of the parasite inside their hosts depends on a combination of the quantity and quality of the available food. The quality of food, increasing with the development of the host, may lead to an increase in the rate of development of the parasite. This holds true till the last nymphal instar of the host. After this, though the quantity of food may increase still further, at least early in the adult stage, its quality might become so different (especially in case of the alate hosts) that the result would be a decrease in the rate of development of the parasite.

The effect of parasitism of the different host stages on the fecundity of the parasite was also studied. In the apterous series (table 30), the average number of ovarian eggs per female amounted to 176 when the first nymphal instar was parasitized and to 213 eggs when the apterous adult was infested. Though there was no significant difference between each two successive stages, the difference between the two extremes, *viz.* parasitized as first instar and as adult, was highly significant.

In the alate series (table 31), the fecundity of the parasite seemed to decrease – rather than to increase – when the host was parasitized in a later stage, at least from the alate third nymphal instar to the alate adult. Though the difference in fecundity between parasites started in the alate third and fourth nymphal instars was not significant, they both contained a significantly higher number of eggs than parasites started in the alate adults.

It should be noted here that on the average a female parasite that had started in an apterous adult had 213 eggs in its ovaries whereas it had 163 eggs when started in an alate adult. These figures, however, are not conclusive because several factors, other than the morph of the host, might have contributed to it, since the experiments on alatae and on apterae were not conducted simultaneously.

It can be concluded, both from the effects on rate of development and on fecundity of the parasite, that there is a difference between the apterous nymphs

and adults on the one hand and the alate nymphs and adults on the other. The alate adults seem to be comparatively less suitable for parasite development than the advanced alate nymphs while this is not the case in the apterae.

To conclude, both host and parasite are influenced by the stage of host parasitized. The most important properties affected in both host and parasite are fecundity and rate of development.

4. EFFECT OF PARASITISM ON ALATE FORMATION

Winged aphids are generally considered to be the main instrument of dispersion of their parasites. After being parasitized, they may take to the wing while carrying early stages of the parasite within them and fly for a long distance to a new locality (ULLYETT, 1938; VEVAI, 1942; SCHLINGER & HALL, 1960).

It has been shown earlier in this chapter (p. 510) that if the cabbage aphid is parasitized in the first or second nymphal instar, it will mummify before reaching the adult stage. An aphid parasitized in the third nymphal instar or later will develop into an adult before it mummifies. Furthermore, it has also been shown (p. 509) that an alate adult runs a lower risk of being parasitized than any of the other stages. Hence, the preference of the parasite to deposit in alate or apterous advanced nymphs remained to be tested and the following experiment was conducted for this purpose.

In each of 11 glass dishes 10 apterous and 10 alate advanced nymphs of *B. brassicae* were confined simultaneously on a cauliflower leaf. Five females of *A. rapae* were introduced into each dish and left for 24 hours to deposit eggs in any of the nymphs. The nymphs were then dissected and the results of egg deposition are given in table 32.

TABLE 32. Parasite eggs deposited in apterous and alate advanced nymphs of *B. brassicae* exposed simultaneously to the parasite

Dish	Total no. of eggs deposited	No. of eggs deposited in the apterous nymphs	No. of eggs deposited in the alate nymphs	Percentage of total eggs deposited in the alate nymphs
1	92	59	33	35.9
2	22	9	13	59.1
3	9	8	1	11.1
4	3	3	0	00
5	40	31	9	22.5
6	39	20	19	48.7
7	9	8	1	11.1
8	47	34	13	27.7
9	28	19	9	32.1
10	5	2	3	60.0
11	20	15	5	25.0
Total . .	314	208	106	33.8

More eggs are deposited in apterous nymphs, $P = 0.01$

These results show that the apterous nymphs had significantly more parasite

eggs than the alate nymphs. As the number of eggs deposited is taken as an indication for the preference of the parasite for oviposition in a certain host, so it can be concluded that the apterous nymphs are preferred by the parasite over the alate nymphs. When both forms of nymphs were offered simultaneously, only about one third of the eggs were deposited in the alatae.

In the field where a variety of stages of the host is present this preference will be even more pronounced. A total of 4042 mummies of *B. brassicae* collected at random in the field during 1960 were classified into: apterous mummies, mummies with fully developed wings and mummies with reduced wing pads (plate 2, B). The results show that less than 0.5% of the mummies had fully developed wings and about 2.2% had reduced wing pads while 97.3% were totally apterous mummies. The ratio of alate mummies was far less than the ratio of the alatae in the aphid population.

This high percentage of apterous mummies was, at least partly, attributed to the fact that the parasite prefers to deposit its eggs in apterous forms. However, another factor that can contribute to a high proportion of apterous mummies is a functional response of the host to the parasite, leading to a suppression of the alate characters and to the formation of an apterous mummy even if an individual destined to be an alate was parasitized. JOHNSON (1958 and 1959) has shown such a suppression of the alate characters in *Aphis craccivora* Koch. when parasitized by *Aphidius platensis* Bréthes.

An experiment was carried out to test the occurrence of such a suppressing effect in *B. brassicae* after being parasitized by *A. rapae*.

A number of first instar nymphs, collected from one leaf of a cauliflower plant, were divided at random into two groups. The nymphs of one group were parasitized. Fifty nymphs out of each group (so 50 parasitized plus 50 non-parasitized) were reared on a cauliflower plant in a sealed cage. Two replicas were used and when the non-parasitized nymphs developed into adults and the parasitized ones developed into mummies each group was classified into alate and apterous. The results are shown in table 33. (Plate 2, B; a, shows the apterous mummies; b and c, show the type of alate mummies obtained in this experiment).

TABLE 33. Effect of parasitism on alate formation

	Non-parasitized; no. of adult aphids			Parasitized; no. of mummies		
	Alate	Apterous	Total	Alate	Apterous	Total
Cage I	10	36	46	6	29	35
Cage II	11	34	45	3	29	32

From these results it was not possible to conclude that there was a significant difference in the proportion of alate and apterous forms caused by the effect of parasitism.

More work should be carried out on the physiological suppression of the alate characters by the parasite before definite conclusions about the causes of the scarcity of alate mummies in the field can be drawn. However, this type of study is beyond the scope of the present work and the fact remains that under natural conditions the proportion of alate mummies is extremely low. More-

over, it was possible to prove that at least one reason for this phenomenon is the preference of the parasite for deposition in apterous adults and advanced nymphs more than in alate ones. It may be concluded that the role of parasitized alatae in the dispersion of the parasite is not very important. The proportion of alatae in nature may not be taken as the index to estimate their role in dispersion of the parasite.

5. EFFECT OF HOST DENSITY ON RATE OF PARASITISM

It has often been stated that parasites play an important role in the regulation of insect numbers (NICHOLSON, 1933; VARLEY, 1947). This statement is based on the assumption that the actual rate of reproduction of the parasite is proportional to host density. Theoretically, assuming that the parasite encounters its host at random and that it has an unlimited supply of eggs to deposit, the relation between host density and the number of eggs deposited per parasite would be linear. In practice, however, it is logic to suppose that, if this linear relation can apply to lower host densities, undoubtedly the parasite fecundity has its limit and the linear relation will inevitably reach a certain maximum with increasing host density. When this density is exceeded, the number of eggs deposited per parasite remains constant.

It has been pointed out by TINBERGEN & KLOMP (1960) that the activity of parasites may be slowed down temporarily after each successful egg deposition. This means that the parasite can be more active at low than at intermediate densities of the host.

Due to the combined effect of limited egg supply and inhibition of activity after oviposition, the relation between host density and number of eggs deposited per female tends to be curvilinear, approaching asymptotically the value indicating the maximum egg production of the parasite.

This curvilinear relation has been demonstrated before in several species of parasites: *Trichogramma sp.* on *Sitotroga cerealella* Oliv. (FLANDERS, 1935), *Mormoniella vitripennis* Wlk. and *Muscidifurax raptor* Gir. on *Musca domestica* L. (DE BACH & SMITH, 1941), *Chelonus texanus* Cress. on *Ephestia kühniella* Zell. (ULLYETT, 1949), *Dahlbominus fuscipennis* (Zett.) on *Neodiprion sertifer* (Geoffr.) (BURNETT, 1951), and *Encarsia formosa* Gahan on *Trialeurodes vaporariorum* Westw. (BURNETT, 1958).

It has been demonstrated earlier in this work (p. 500) that the parasite *A. rapae* has long periods of rest after some successful ovipositions. Therefore an experiment was conducted to study the combined effect of this behaviour and the reproductive capacity of the parasite on the relation between host density and number of eggs deposited.

A. Methods

In the set-up of the experiment, the following three main points were taken into consideration:

1. The area over which the parasite searched for the hosts was kept constant, i.e. a glass dish as was used in earlier experiments (plate 1, B).

2. In order to eliminate any interference of the searching parasites, only one female parasite was used per dish.

3. The experiment was carried out during the whole life-time of the adult parasite.

Each dish was provided with a small leaf of brussels sprouts inserted in a small glass vial full of water. Half-grown apterous nymphs of *B. brassicae* were placed on the sprout leaves. Four different densities of the hosts were used; 1, 5, 10 and 20 nymphs per dish. A newly emerged female parasite was introduced into each dish and provided with honey droplets for food. Every day the female parasites were transferred to a new dish containing the same number of hosts as before. To facilitate the detection of the number of parasite eggs deposited, the dishes with the exposed nymphs were kept under about 25 °C for 2 to 3 days before dissection (see p. 491). During this period, the nymphs were checked daily and any nymph that seemed weak or moribund was dissected to record the number of parasite eggs within it. In order to determine the proportion of eggs deposited, the female parasites were also dissected after dying to count the number of eggs retained in their ovaries.

Ten replicas of each treatment were carried out. Since it was practically impossible to handle all fourty dishes at one time, whole series of the four different treatments of host densities were set up on a given day to minimise as much as possible the effect of variation in environmental conditions.

B. Results and discussion

The results of the experiment are summarized in table 34 and shown in fig. 18.

TABLE 34. Effect of host density on rate of parasitism and fecundity of the parasite, *A. rapae*

	Number of host nymphs given daily to each parasite female			
	1	5	10	20
Total number of nymphs exposed per female parasite	7.7	57	110	172
Total number of nymphs parasitized per female parasite	3.8	25	53.1	62.3
Percentage of exposed nymphs parasitized per female parasite	49.6%	43.9%	48.3%	36.2%
Total number of eggs deposited per female parasite	26.2	63.9	106	104
Number of eggs retained in the ovaries after death of the female parasite	135.3	52.8	52.8	82.4
Total number of eggs (deposited + retained in ovaries) per female parasite	161.5	116.7	158.8	186.4
Percentage of total eggs deposited per female parasite	14.6%	58.6%	68.7%	67.0%
Number of eggs deposited per female per day	3.6	5.6	10.6	12.4

These results show that host density affected both the number of eggs deposited per parasite and the fraction of hosts parasitized.

The number of eggs deposited during the whole life of the female parasite gradually increased from an average of about 26 eggs per female when it had access to one host individual per day, to an average of 106 eggs when 10 host individuals were available per day. A highly significant difference ($P < 0.01$)

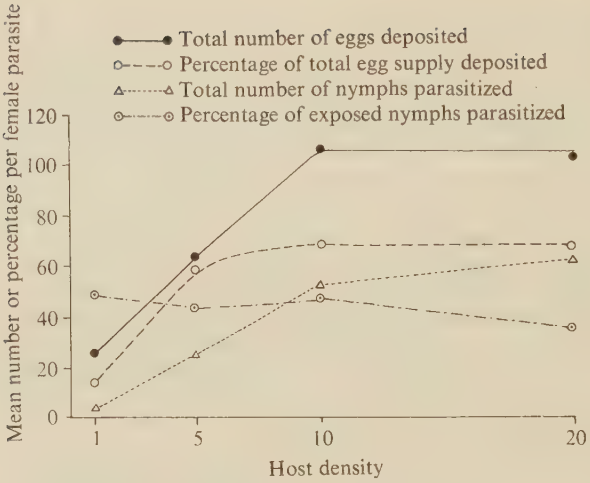


FIG. 18.
Effect of host density on rate of parasitism

occurred between means when 1 or 5 nymphs were exposed and a significant difference ($0.01 < P < 0.05$) when 5 or 10 nymphs were given. Apparently 106 eggs deposited per female at a host density of 10 nymphs per day was the highest value that could be obtained under these experimental conditions. This value remained almost constant with a further increase of host density from 10 to 20 nymphs.

The dissection of dead females made it possible to compare the number of eggs deposited with the total number of eggs produced. It was shown that on the average the total egg supply of the female was in no case exhausted. The mean fraction deposited was very low (14.6%) when one host individual was available per day, while it increased gradually to a maximum of 68.7% when 10 host nymphs were available. At a higher density it remained almost constant. The difference between the value obtained at the lowest density (14.6%) and the other values was highly significant, whereas no significant differences were obtained between the three higher values. Comparing the female parasites within each group, it was found that in the first treatment (1 host per day) the total number of eggs per female was never in short supply. In the extreme case, one female had a maximum of 70% of the eggs deposited. In each of the three other treatments (5, 10, and 20 hosts per day) 3 out of 10 females were able to deposit more than 90% of their eggs. In a few cases; 1 at density 5, 1 at 10 and 2 at 20 nymphs per day, the potential reproductive capacity was actually reached. On dissection, the ovaries were entirely devoid of eggs.

These results show that the relation between host density and number of eggs deposited is curvilinear rather than linear. A linear relation can be illustrated, if it is presumed that the parasite searches at random and that it is neither affected by egg limitation nor by periods of rest. Thus, starting from the mean number of 26.2 eggs deposited at the lowest density, theoretical numbers were calculated for the higher host densities as shown in table 35.

It is shown in table 35 that an increasing deviation is obtained between the theoretical and the actual number of eggs deposited per parasite. The exhaustion of the egg supply of some of the ovipositing females could account for this

TABLE 35. Effect of host density on actual oviposition in comparison to calculated theoretical oviposition in *A. rapae*

No. of hosts given daily to one parasite female	Observed mean no. of eggs deposited	Calculated no. of eggs deposited	Percentage observed to calculated
1 nymph	26.2	26.2 × 1 = 26.2	100
5 nymphs	63.9	26.2 × 5 = 131	49
10 nymphs	106	26.2 × 10 = 262	40
20 nymphs	104	26.2 × 20 = 524	20

trend. However, it could not be the only reason because it has been shown that actually most of the female parasites did not deposit all their eggs, even at higher host densities. Another factor which presumably contributed to this trend was the behaviour of the parasite during oviposition which may be responsible for its inefficiency at the higher host densities. It was shown before (p. 500) that the parasite took periods of rest after some eggs were deposited. These periods gradually increased in magnitude as more hosts were parasitized. This fact leads to the assumption that in most cases the parasite was hindered in its searching for hosts by the limited time available within its life span rather than by the exhaustion of its egg supply.

As a consequence of the observed phenomena, the number of hosts encountered and parasitized showed the same curvilinear trend with the increase of host density. It is of importance to note that at lower host densities (1 to 10 nymphs) the parasite was able to parasitize an average of about 44 to 50% of the exposed nymphs, while this rate declined to only 36% when the host density increased to 20 nymphs per day.

The number of eggs deposited per day per female have more or less the same trend as the total number of eggs deposited and the same explanations can be applied here.

From the practical point of view, the observed phenomena of a curvilinear relation between host density and number of parasite eggs deposited is of importance under field conditions. Aphid densities comparable to 10 hosts per dish can readily occur in the field. During the two years of investigation, large areas of the leaves and sprouts of most of the brussels sprout plants were almost covered with aphids early in the season of 1959 and 1960 and in autumn of 1959. With such host densities the parasite would reproduce at its maximum rate. However, when the net rate of increase of the host at these densities is higher than that of the parasite, the latter would not be able to regulate the numbers of the aphid. Consequently the percentage of parasitism would decrease when the host density increases. Actually this proved to be the case under field conditions (see fig. 19, chapter VII).

CHAPTER VII

HOST – PARASITE INTERACTIONS IN THE FIELD

In CHAPTER III, the course of population changes of the cabbage aphid in the field was studied throughout the seasons of 1959 and 1960. Some of the mortality factors which influence the changes were discussed in CHAPTER IV. *A. rapae*

was found to be the only primary parasite infesting this aphid in The Netherlands. In the present chapter an assessment of this parasite as a mortality factor in the field is made in an effort to evaluate its role in the observed changes in host density.

1. PARASITISM DURING THE SEASON

A. Estimation of parasitism by dissection of nymphs

1. Method: The immature stages of related species of the family Aphidiidae cannot be easily separated. However, because *A. rapae* was found in this work to be the only primary parasite of *B. brassicae* in The Netherlands, any immature stages of primary parasite within the aphid indicate parasitism by this species. Parasitism was estimated by weekly dissection of advanced nymphs of the cabbage aphid collected at random from each of the three sampled brussels sprout fields during the summer and autumn of 1959 and 1960. Normally about 100 nymphs were dissected, but in three cases in 1960 the infestation was so low that it was practically impossible to secure that number. During three other weeks in 1960 it was possible to dissect 400 nymphs, instead of 100, per sample. Advanced nymphs were selected for the dissections because they provide the maximum chance of an aphid individual to be parasitized without being mummified. Therefore, the fraction of advanced nymphs parasitized was taken as an index for the rate of parasitism, but it could not be used to calculate the absolute quantities of parasitism of the whole aphid population.

2. Results and discussion: The results of the dissections of nymphs collected in each of the three fields are given in table 36 and shown in fig. 19.

When the trend of parasitism, as revealed in this way, is compared with the population changes of the host, it could be shown that the rate of parasitism was not governed by the population density of the host alone. If it was governed in this way, the delayed effect of host density on the rate of parasitism would have formed a curve of parasitism oscillating more or less in the same manner as host density, but slightly lagging behind it. This was not the case and there are indications that other factors, in addition to host density, affected the rate of parasitism.

Probably, early in the season the rate of parasitism was more closely correlated with host density because the other factors are not yet strongly operating. With the increase in host populations in July, in general the trend of the fraction of hosts parasitized declined. Two main factors are presumably responsible for this decline:

1. The limited egg supply and the relative decrease of activity of the parasite at high host densities, discussed in chapter VI.

2. The effect of hyperparasitism causing high mortality of the parasite. This factor will be discussed in the next chapter.

A clear influence of the first factor can be seen in the case of the sudden increase of host density during a certain week, followed by a decline in the next week (20-VII-'59 in field B and 20-VII-'60 in field C). These changes of host density were accompanied by a sudden decline, followed by an increase again, in the percentage of parasitism.

In spite of the high proportion of hyperparasitism during the main part of

TABLE 36. Percentage of parasitism of *B. brassicae* (advanced nymphs) by *A. rapae* in the field. (Based on dissections of about 100 nymphs in most cases)

Field A (1959)			Field B (1959)			Field C (1960)		
Date	No. dissected	Percentage parasitized	Date	No. dissected	Percentage parasitized	Date	No. dissected	Percentage parasitized
10-VII	100	42	6-VII	100	26	22-VI	100	34
17-VII	109	24	13-VII	100	39	28-VI	100	78
24-VII	100	21	20-VII	113	10	6-VII	100	47
31-VII	100	8	27-VII	100	33	13-VII	400	27
7-VIII	100	21	3-VIII	100	26	20-VII	400	15
14-VIII	100	55	10-VIII	105	56	26-VII	400	32
21-VIII	102	45	17-VIII	100	59	3-VIII	147	46
28-VIII	100	34	24-VIII	100	22	10-VIII	38	39
4-IX	100	22	31-VIII	100	26	17-VIII	100	36
11-IX	100	4	7-IX	100	12	24-VIII	56	30
18-IX	100	2	14-IX	100	7	1-IX	100	1
26-IX	100	11	21-IX	103	13	8-IX	100	1
2-X	100	24	28-IX	100	12	15-IX	100	28
9-X	100	12	5-X	100	34	22-IX	100	12
16-X	100	12	12-X	100	17	28-IX	100	00
23-X	100	9	20-X	100	18	5-X	100	7
31-X	100	8	26-X	100	11	13-X	100	14
6-XI	100	11	2-XI	100	15	20-X	100	23
13-XI	100	12	10-XI	106	13	27-X	57	4
20-XI	100	9	16-XI	101	8			
27-XI	100	18	24-XI	100	18			
4-XII	100	13	30-XI	100	15			
11-XII	100	12	7-XII	100	9			
18-XII	107	7	14-XII	100	9			
			21-XII	100	7			

the season, the mid-season decline in host population was accompanied by an increase of the rate of parasitism, reaching a maximum of 55% and 59% in fields A and B respectively. During that period, the host populations were at their mid-season minimum.

When the parasites reproduce at their maximum rate at a high host density, the percentage of parasitism will increase after a decrease of the host density, so long as the decline in host density is not too drastic to influence the reproduction rate of the parasite to a large extent. It is very unlikely, however, that this phenomenon is the only factor responsible for the high percentage of parasitism during the mid-season decline. Probably, another factor is that the absolute number of parasites during the host minimum is very high due to the peak numbers of the host in the foregoing weeks.

In 1960, probably because the mid-season decline of the aphid population was very severe (down to a minimum of 3 aphids per plant on 8-IX-'60 in field C), the trend of parasitism was different. Presumably, the host density was so low that the actual reproductive rate of the parasite was seriously affected. Moreover, the parasite density must have been much lower than the foregoing year. These factors led to a minimum parasitism of only 1% during the period when the host was at its mid-season minimum.

Later in the season, several other factors besides host density affected the rate of parasitism. The hyperparasites enter diapause earlier than the parasites. This reduced the effect of an important mortality factor of the parasite. Further-

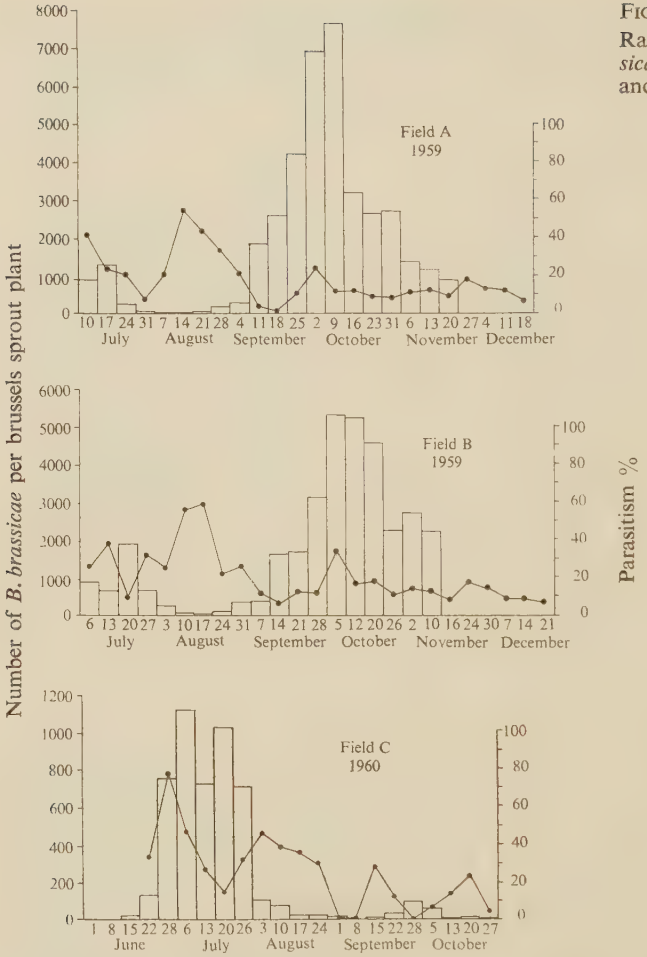


FIG. 19.
Rate of parasitism of *B. brassicae* in fields A and B (1959) and C (1960)

more, physical factors (such as temperature, rainfall and photoperiod) might unfavourably affect the host, the primary parasite and the hyperparasites. The interactions of all these factors in autumn and early winter have led to a trend of parasitism that fluctuated around a comparatively low mean.

At any rate, parasitism in the late season is not of great practical importance because normally the parasite larva which does not reach at least the last larval instar and change the host into a mummy before winter, will perish together with its host during winter due to physical factors.

B. Estimation of parasitism by counting the proportion of mummies

1. Method. It was shown in chapter VI that regardless of the stage parasitized, the host develops into an advanced nymph or an adult before it mummifies. Thus, within a given population with all age groups, the proportion of mummies to the sum of adults, advanced nymphs and mummies would give an

idea of the fraction of aphids parasitized. If this proportion is measured periodically, the seasonal trend of parasitism can be obtained.

To collect the necessary data for such an estimation, the mummies were counted when sampling the three fields of brussels sprouts as described in CHAPTER III. Only unemerged and intact mummies were counted.

2. Results and discussion: The results obtained by this method are given in table 37.

For evaluating the results of this method, the following points should be considered:

1. When the counts were started very early in the season, as was the case in field C in 1960, the number of mummies could not be a correct indication of the actual rate of parasitism. In such periods all, or most, of the parasitized aphids would still be in an early stage of parasitism. Thus, the rate of parasitism could not be measured by the number of mummies.

2. Also late in the season, starting about early September, the rate of parasitism as indicated by the proportion of mummies included a certain error because by that time the parasite starts to hibernate as last instar larva inside the mummy. This would lead to an increasing accumulation of the number of mummies. Thus, the percentage of mummies would be biased if it was taken as an indication for parasitism.

3. If other mortality factors, such as climate or predators, would eliminate different proportions of parasitized and non-parasitized aphids, the proportion of mummies would also be biased. It is very unlikely that this is the case in *B. brassicae* at least up till the time of mummification.

4. Only the apparent sound mummies were considered, while empty mummies from which parasites had emerged were not included in the data. Also mummies that were injured and dead were not counted. This prevented recounting the same mummy repeatedly on successive weeks. An error would be introduced by counting the apparently sound mummies which in fact have a dead parasite but which, because of lack of any external symptoms would be counted again for several weeks. This class of mummies will not exceed about 20% of all the mummies. In 1959 out of 5798 non-hibernating mummies kept in glass tubes under outdoor conditions 22% failed to emerge while in 1960 out of 4456 mummies 21% failed to emerge.

5. There is a difference in the way aphids and mummies hold to the substratum. An aphid clings to it with its legs and proboscis whereas a mummy is cemented to the surface by the threads of the cocoon spun by the last instar larva of the parasite. Consequently when a mortality factor kills an aphid, it will either drop to the soil, remain on the plant as a dead individual or be removed away by the factor. In all these cases the dead aphid will not be counted as a living individual. On the other hand a mummy that succumbs to the same mortality factor may still be cemented to the plant enclosing a dead parasite, and so it will still be counted as a mummy. This difference could also lead to an error in favour of a higher rate of parasitism than is actually the case.

6. The mummies, advanced nymphs and apterous adults are stationary whereas the alate adults are mobile. Therefore, these latter were not included in the calculations. Since their numbers per plant were generally negligible, this procedure could not have an important influence on the results.

TABLE 37. Percentage of parasitism of *B. brassicae* by *A. rapae* in the field
(based on the proportion of mummies to total of advanced nymphs + apterous adults + mummies)

Field A (1959)				Field B (1959)				Field C (1960)			
Date	No. of advanced nymphs + apterous adults per plant	No. of mummies per plant	% mummies to total (ad. + apt. + mum.)	Date	No. of advanced nymphs + apterous adults per plant	No. of mummies per plant	% mummies to total (ad. + apt. + mum.)	Date	No. of advanced nymphs + apterous adults per plant	No. of mummies per plant	% mummies to total (ad. + apt. + mum.)
10-VII	111	10	8	6-VII	154	19	11	15-VI	3	0.4	12
17-VII	256	31	11	13-VII	174	24	12	22-VI	19	2	10
24-VII	60	29	33	20-VII	461	41	8	28-VI	56	7	11
31-VII	16	14	47	27-VII	156	17	10	6-VII	134	39	23
7-VIII	10	8	44	3-VIII	63	10	14	13-VII	384	61	14
14-VIII	7	3	30	10-VIII	9	5	36	20-VII	187	83	31
21-VIII	15	7	32	17-VIII	6.5	7	52	26-VII	294	120	29
28-VIII	37	13	26	24-VIII	18	8	31	3-VIII	59	57	49
4-IX	82	13	14	31-VIII	53	13	20	10-VIII	18	20	53
11-IX	488	31	6	7-IX	62	6	9	17-VIII	11	13	54
18-IX	672	41	6	14-IX	226	30	12				
26-IX	910	48	5	21-IX	211	11	5				
2-X	2006	101	5	28-IX	552	23	4				
9-X	3751	187	5	5-X	1630	68	4				
16-X	2097	263	11	12-X	2773	357	11				
23-X	1781	246	12	20-X	2802	498	15				
31-X	1778	235	12	26-X	1387	294	17				
6-XI	945	210	18	2-XI	1880	267	12				
20-XI	715	209	23	10-XI	1797	355	16				

The sources of error mentioned above lead to a higher estimation of the fraction of parasitized hosts than actually occurs. This error is obviously more emphasized when the host densities are low. This bias towards a high degree of parasitism should be taken into account when considering the mortality due to parasitism as a fraction of the total mortality suffered by the aphid.

The figures obtained by the two methods of estimation look different. However, the rate of parasitism as indicated by them have a rather similar trend, especially during the main part of the season.

C. Role of parasitism as a mortality factor of the cabbage aphid

The population changes of the cabbage aphid have been shown before (CHAPTER III) and it is rather obvious that a high mortality occurred within the populations of the aphid especially during the mid-season decline.

Judging from the percentage of parasitism as obtained by the two above mentioned methods, it was evident that during almost all the season the mortality due to parasitism accounted for a rather small fraction of the total aphid mortality. It might be safe to conclude that parasitism is not the main factor affecting the population changes of the cabbage aphid. In all three fields it was clear that parasitism could not be the mortality factor responsible for the sudden mid-season decline in the cabbage aphid population.

2. PARASITISM ON THE OVERWINTERED PLANTS EARLY IN THE SEASON

It has been mentioned before that *B. brassicae* overwinters in The Netherlands as eggs. These hatch early in spring during varying periods according to the type of weather prevailing in each season. In 1960 most hatching occurred in the three last weeks of March. In the same year the emergence of overwintering parasites increased rather gradually to a first peak in the second week of April and a second peak in the second week of May (see fig. 21). No reliable data could be obtained for the spring of 1961 owing to the scarcity of aphid eggs and mummies during the winter of 1960–1961.

The fundatrices which hatch in the spring on Brassica plants kept over winter for seed production are considered in The Netherlands to be the main source of infestation for the new crops. Consequently, the application of insecticides is recommended in spring on the seed plants to reduce, or to eliminate, this early source of infestation. Since the occurrence of the host and the parasite almost coincided early in 1960, it was important to determine the effect of parasitism on the early generations of *B. brassicae.*

A. Rate of parasitism early in the season

Weekly dissections of 100 individuals of *B. brassicae* taken at random from the overwintered brussels sprout plants kept for seed in the experimental farm near Wageningen were carried out from 1-IV-'60 to 11-VII-'60, inclusive. The material taken on 1-IV-'60 consisted almost exclusively of first instar fundatrices (with very few second instar ones), while the material taken on 8-IV-'60 consisted mostly of second and third instar fundatrices (with very few first instar nymphs). During the period from 15-IV until 11-VII only advanced nymphs were

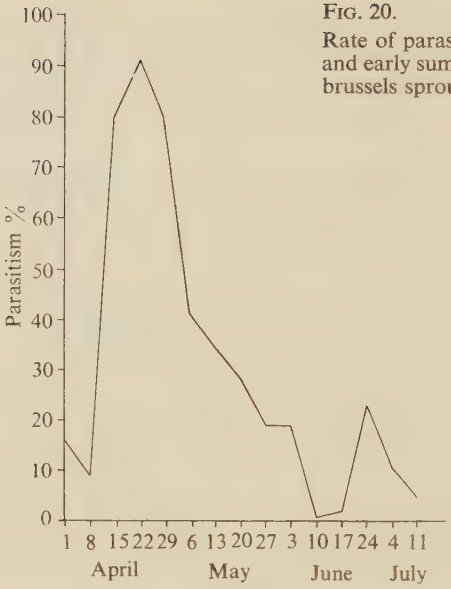


FIG. 20.
Rate of parasitism of *B. brassicae* in spring and early summer of 1960, on overwintered brussels sprout plants

dissected. By the end (11-VII-'60) the plants were senescent and most of the aphids had developed to alate adults and dispersed to the newly cultivated sprout plants. The results of the dissections are shown in fig. 20.

Though these results were obtained during one season only, they seemed to indicate that the right coincidence of emergence of overwintered host and parasite in early spring (together with the delayed emergence of hyperparasites as will be shown later) led to a very high peak of parasitism early in the season. Throughout the second half of April 1960 the dissected nymphs have shown a high degree of parasitism ranging from about 80% to 90%. Starting in May, however, this rate of parasitism declined very sharply to almost negligible values in June.

The following factors might have contributed to the high parasitism early in the spring:

1. The high rate of emergence of the parasites from overwintering mummies, which accumulated throughout autumn and early winter, leading to a high parasite density.
2. The hosts did not increase in numbers. On one hand the winter eggs have hatched and on the other hand the reproducing adults were not yet present. At the same time the parasite was still increasing in number by emergence, both from overwintering mummies and from early mummies of the first generation in spring.
3. Emergence of the hyperparasites from the overwintering mummies started later than that of the primary parasite.

The decline of the rate of parasitism in May, could be attributed to the emergence of increasing proportions of hyperparasites and the decline in rate of emergence of the primary parasite.

B. Economic importance of the early parasitism

The high rate of parasitism of the fundatrices on the overwintered seed plants may be an important factor in a program which integrates chemical and biological control of the cabbage aphid. More studies should be made as to the type of insecticide to be applied on the seed plants, its dosage, method and right time for application. Probably it would be possible to reduce the number of aphids before they develop to alatae and without seriously affecting the parasite population.

Furthermore, the different periods of emergence of overwintering parasites and hyperparasites may be of use in finding out the right time for destroying the overwintering host plants so that a large number of the parasites will be already emerged while a large number of the hyperparasites will be still within the mummies on the destroyed plants.

CHAPTER VIII

HYPERPARASITES AS MORTALITY FACTORS OF *A. RAPAE*

1. INTRODUCTION AND HISTORICAL REVIEW

Earlier in this paper the hyperparasites were occasionally mentioned as factors of possible importance in influencing the numbers of the primary parasite *A. rapae*. In the present chapter some details about the role of hyperparasites in decimating the numbers of *A. rapae* will be discussed.

The complex of Hymenopterous parasites emerging from mummified aphids has long caused some confusion as to their true status. An illustration of such a confusion is provided by the statement of PICARD (1919) about the interrelations of the Aphidiid *Trioxys sp.*, the Cynipid *Alloxysta kiefferi* Picard and the Pteromalid *Asaphes vulgaris* Wlk. He stated that the interrelations of these Hymenoptera are not definitely known, because many authors have considered the Cynipids to be true parasites of aphids, others consider them to be hyperparasites while a third possibility is that the Aphidiids are hyperparasites of the Cynipids. As for the Pteromalid *Asaphes vulgaris*, PICARD thought that it is a hyperparasite but he stated that there is no definite proof for that. A similar contradiction as to Hymenopterous parasites associated with the cabbage aphid pertained till rather recently, though it was generally accepted that the Aphidiid parasites are the only primary parasites while the others are secondary or tertiary parasites.

MELANDER & YOTHERS (1915, 1917) mentioned that in Washington State, U.S.A., the commonest parasites of *B. brassicae* were *Aphidius piceus* (Cress.) and *Charips brassicae* (Ashm.) while *Pachyneuron micans* How. and *Asaphes rufipes* Brues were hyperparasites. GOURLEY (1930) and TODD (1957) stated that in New Zealand *A. rapae* is parasitized by *Charips brassicae* (Ashm.) and *Lygocerus niger* How., and that though considerable numbers of *B. brassicae* were attacked by the parasite, this latter is nevertheless of little value in checking the population of the aphid, partly owing to hyperparasitism. BARNES (1931) found that out of a single brussels sprout plant heavily infested with *B. bras-*

sicae, 4366 mummies gave emergence to parasites; 12% primary parasites, 78% *Charips sp.* and 10% *Asaphes sp.* NEWTON (1934) reported that in England brussels sprouts were attacked by the cabbage aphid of which 15% were parasitized by *A. rapae*, 8% by *Asaphes vulgaris* and 1% by *Charips brassicae*. PETHERBRIDGE & MELLOR (1936) mentioned that in England the Hymenopterous parasites were active from April till October on the cabbage aphid. Beside the real primary parasite *A. rapae*, they mentioned as primary parasites *Asaphes vulgaris* and *Lygocerus testaceimanus* Kieff. They also mentioned *Charips victrix* Westw. var. *infuscata* Kieff. as hyperparasite. BILANOVS'KII (1938) collected 125 mummies of *B. brassicae* in Crimea (U.S.S.R.) out of which 25% gave the primary parasite *A. rapae* while 53% yielded *Charips minuta* Htg., 11% *Pachyneuron aphidis* Bch., 5% *Asaphes vulgaris* and 2% *Tetrastichus rapo* Wlk. His conclusion is that the hyperparasites destroyed 60% of the primary parasites.

ULLYETT (1938), in a study of parasitism in the genus *Aphidius* in South Africa, mentioned that *Charips spp.* contributed by far the largest number of species which parasitized *Aphidius spp.* Towards the end of the summer they became so numerous that as many as 80% of the *Aphidius* larvae dissected from the aphids contained *Charips*. ULLYETT correctly placed all the groups of parasites concerned in their right positions and so *Charips spp.* were mentioned as hyperparasites ovipositing in the early larvae of *Aphidius spp.* However, he recorded that at times, probably by accident, a *Charips* larva may be found free in the body cavity of an otherwise healthy aphid, acting as a primary parasite. *Charips spp.* have frequently been mentioned in the literature as primary parasites but it is obvious that these statements are erroneous, because they were based only on data taken from emergence from mummies. ULLYETT's statement was based on dissections and, though he admitted that it was comparatively rare, still it was such a drastic deviation from the normal position of *Charips spp.* as a secondary parasite, that it needs further confirmation. In this respect, it has to be stated that out of thousands of cabbage aphids dissected by the present writer in The Netherlands, larvae of *Charips sp.* were never encountered except as secondary parasites on *A. rapae*.

GEORGE (1957) mentioned *Charips sp.*, *Asaphes vulgaris* and *Lygocerus sp.* as hyperparasites on the cabbage aphid in England, but he stated that, within the material he worked with, the proportion of primary parasites exceeded those of any of the hyperparasites. SEDLAG (1958b) found in Germany that out of 4417 emerging parasites from mummies of *B. brassicae*, about 66% were the primary parasite *A. rapae*, while 34% were hyperparasites; 22% Charipinae, 11% *Asaphes sp.* and less than 1% for each of *Pachyneuron sp.* and *Lygocerus sp.*

Thus it is seen that, when the actual position of the hyperparasites was finally ascertained, in most cases they were supposed to play an important role in hindering the biological control of the cabbage aphid. In The Netherlands, the identity of the species of hyperparasites involved and their importance as a mortality factor of the primary parasite *A. rapae* have not been studied before.

2. SPECIES OF THE HYPERPARASITES OF *B. brassicae* IN THE NETHERLANDS

It has been mentioned above that *A. rapae* is the only primary parasite of the cabbage aphid that has been encountered during the present work. In ad-

dition out of about 25,000 mummies of *B. brassicae* collected in The Netherlands in 1959 and 1960, the following hyperparasites emerged:

A. Charips ancylocera Cam. (*Fam. Cynipidae*)

This species was determined by J. QUINLAN, who stated with some reserve that it is possibly *C. ancylocera*. The female approaches a parasitized aphid, mounts its back and slowly and with little reaction on the part of the aphid, deposits an egg internally inside the larva of *A. rapae* within the aphid. Normally the young larvae of the primary parasite, first and second instar larvae, appeared to be preferred for oviposition. Both larvae of the primary and secondary parasites develop till the former attains its mature instar and thus the host aphid will be mummified. When the larva of the secondary parasite is full-grown, it emerges out of the primary parasite larva, but still remains inside the mummy. The larva of *Charips* subsequently acts as an external parasite by consuming the remains of the primary parasite larva. Pupation takes place also within the mummy and eventually the adult hyperparasite bores its way out of the mummy through a characteristic hole. In 1960 under outdoor conditions 4 to 7 generations took place. The minimum duration from egg to adult was 19 days, in July, and the maximum duration was 37 days, in May and early June. In the overwintering generation, the maximum duration was 259 days, 16-IX-'60 to 2-VI-'61. Overwintering takes place in the prepupal stage inside the mummy. Only one adult emerges from each mummy.

B. Asaphes vulgaris Wlk. *and Pachyneuron minutissimum* Fö

These representatives of the Family Pteromalidae were identified by V. DELUCCHI. Both are external parasites which deposit their eggs through the integument of the aphid mummy on the cuticle of any stage that occurs inside it; last instar larva, prepupa or pupa of either *A. rapa* or *Charips ancylocera*. Sometimes eggs were seen to be deposited even on individuals of the same species inside the mummy. So actually this group consists of secondary parasites, tertiary parasites or even further. More than one egg may be deposited within the same mummy but eventually only one parasite emerges. Parasitism by the Pteromalids will in all cases surpass other parasites because in the process of oviposition the host is venomized and so its development is arrested. Venomization also affects the larva of *Charips* inside the larva of *Aphidius* when an egg is deposited on the latter larva. By the time the Pteromalid larva is fully developed, almost all the parasite material inside the mummy is consumed. Pupation takes place inside the mummy.

C. Lygocerus aphidovorus K. *(Fcm. Ceraphronidae)*

This species was determined by G. E. J. NIXON. It is an external parasite with the same behaviour as has been described in the Pteromalids. It can parasitize *Aphidius sp.*, *Charips sp.* and even the Pteromalids, but its occurrence is very scarce. As has been mentioned for the other parasites, one adult emerges per mummy.

3. EMERGENCE OF PRIMARY PARASITES AND HYPERPARASITES FROM MUMMIES OF *B. brassicae* COLLECTED IN THE FIELD IN 1959 AND 1960

As has been mentioned before, about 25,000 mummies of *B. brassicae* were

collected from different cruciferous plants in different parts of The Netherlands, but mostly from brussels sprouts near Wageningen. The mummies were carefully removed from the plants and each collection was confined in a separate large glass vial kept in an outdoor insectary. Emergence in each tube was checked daily; all the mummies were left to overwinter and checked for additional emergence the following spring and summer. In all collections an average of about 18% of the mummies failed to emerge. The results of these collections are summarized in table 38.

TABLE 38. Emergence from mummies of *B. brassicae* collected in 1959 and 1960

Month, mummies were collected	Total no. of mummies collected	Percentage of mummies giving emergence to			
		Aphidius rapae	*Charips ancylocera*	*Asaphes vulgaris* + *Pachyneuron minutissimum*	*Lygocerus aphidovorus*
June 1959	1701	35.3	42.6	4.7	0.2
July	2355	4.5	40.3	30.2	0.3
August	2094	8.2	45.9	20.7	–
September	1172	11.6	60.7	13.3	–
October	4368	26.6	50.9	7.9	–
November	3151	36.7	39.2	13.6	–
December	1827	54.7	23.7	11.2	–
January 1960	322	46.2	28.3	14.3	–
February	573	26.0	19.4	38.6	–
March	612	32.2	24.8	26.3	–
April	864	21.8	19.4	36.5	–
May	1132	9.6	42.9	23.3	0.4
June	1170	7.5	40.9	26.3	0.1
July	2625	15.9	48.9	14.2	1.7
August	849	2.8	37.1	32.0	–
September	78	11.5	64.1	12.8	–
October	102	12.7	50.0	3.9	–

Owing to the very low infestation of *B. brassicae* in autumn 1960, the mummies were very scarce in the field in that season. For this reason, the collections were stopped at the end of October 1960.

The following points should be mentioned:

1. When the mummies are collected in the field and confined in tubes, the proportion of emerged *Aphidius* and *Charips* will not be changed, assuming that the Pteromalids and *Lygocerus* sp. parasitize them indiscriminately, which seems to be a justifiable assumption.

2. Parasitism by *Lygocerus sp.* is very low, and so no important changes will occur as a result of confining the mummies in tubes.

3. Parasitism by Pteromalids is of importance and undoubtedly the percentage of parasitism as taken from the collected mummies would be less than the actual percentage if the mummies were left under natural conditions. However, even such a low percentage of parasitism suffices to demonstrate the high effect of hyperparasitism on the primary parasite *A. rapae*.

4. *A. rapae* suffers highly from its hyperparasites. Emergence of *A. rapae* from mummies collected in each month of the main part of the season (July

to September) in the two years under consideration did not exceed a maximum of about 16% of the collected mummies while it went as low as about 3%.

5. Towards the end of the 1959 season from September through the winter, the proportion of mummies yielding *A. rapae* gradually increased while the fraction of hyperparasites (especially *Charips*) gradually decreased. This indicated that the primary parasite enters diapause later than the hyperparasites.

6. Since it is shown that through the season the rate of emergence of *Charips sp.* surpasses by far the rate of emergence of *A. rapae*, and since it is assumed that the Pteromalid parasites attack mummies containing either *A. rapae* or *Charips sp.* indiscriminately, the Pteromalid parasites destroy more *Charips sp.* than *A. rapae*.

7. The proportions of different groups of parasites emerging from mummies of *B. brassicae* collected in the field in The Netherlands are illustrated by the following data:

In 1959 a total of 16568 mummies were collected, out of which 26% yielded *A. rapae*, 44% *Charips*, 14% *Pteromalids* and 0.07% *Lygocerus*.

In 1960 a total of 8338 mummies were collected, out of which 16% yielded *A. rapae*, 38% *Charips*, 24% *Pteromalids* and 0.6% *Lygocerus*.

4. EMERGENCE OF PRIMARY PARASITES AND HYPERPARASITES EARLY IN THE SEASON

Since a very high infestation of *B. brassicae* occurred in the autumn of 1959, it was possible to collect a large number of mummies in autumn and winter, September '59 until end of February '60.

These mummies were kept for emergence through winter, spring and early summer in tubes placed in an outdoor insectary. A total of 8574 parasites emerged between January and June 1960; about 39% *A. rapae*, 45% *Charips* and 16% Pteromalids. The timing of emergence of the different parasites is shown in fig. 21. Because the infestation of *B. brassicae* late in the season 1960 was very scarce, the overwintering mummies were also scarce, and consequently no reliable figures on parasite emergence could be obtained. Hence, the following discussion is based on results of one year only and admittedly different results might be obtained under different conditions. However, results obtained in spring of 1960 could be applied to seasons with different conditions, taking into consideration such factors as aphid populations in autumn, time and proportion of emergence of the different groups of parasites and type of weather prevailing in autumn, winter and spring.

As mentioned above, the high population density of the aphid late in the season 1959, together with the fact that the hyperparasites start diapause earlier than the primary parasites, led to the occurrence of a larger proportion of overwintering mummies with *A. rapae* than is normally the case in summer. It is seen from fig. 21 that *A. rapae*, but not the hyperparasites, can emerge even in winter time, though in small quantities. Such emerging parasites, however, are bound to die without reproducing because normally hosts are not available in the field in that period.

The important phase in emergence was the early and steady increase in the rate of emergence of the primary parasite in the second half of March, which

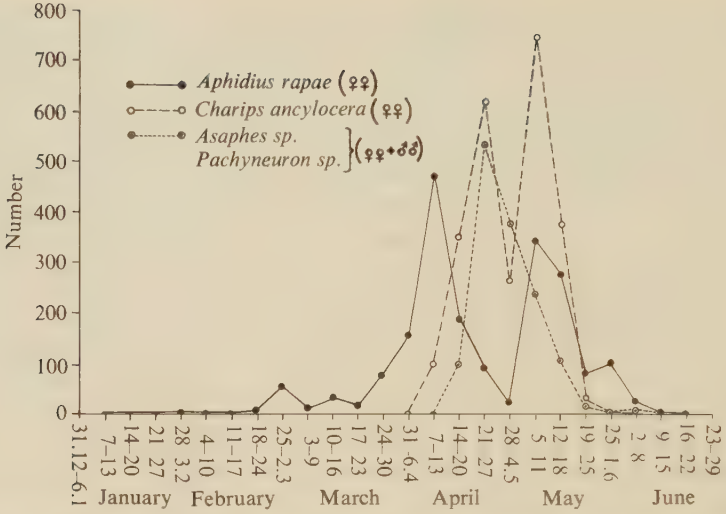


FIG. 21. Rate of emergence of *A.rapae*, *Charips ancylocera* and *Pteromalids* in 1960 from overwintered mummies

reached its peak in the second week of April. *Charips* started to emerge also in the second half of March, but only males emerged in that early period. The first females appeared in the second week of April, with the first peak of their emergence lagging two weeks behind that of the primary parasite. The Pteromalids started to emerge also late and reached their peak similarly two weeks behind that of *A. rapae*. This pattern of emergence of the different groups of parasites from the overwintering mummies gave the primary parasite a lead of about 2 to 3 weeks ahead of the hyperparasites.

The early emerging primary parasites would coincide with the first generation of *B. brassicae*. Most probably this is one of the causes for the early high rate of parasitism among the fundatrices (fig. 20).

In years with a low aphid infestation in the autumn (such as 1960) leading to a very low number of overwintering mummies, probably this difference in periods of emergence of the primary and hyperparasites would not be significant. However, in such years the number of overwintering aphid eggs will also be low leading to a very low number of hatching fundatrices in the following spring. In consequence, this first generation will not be of much practical importance.

As has been indicated before, from a practical point of view an annual estimation of the rate and time of emergence of the primary and secondary parasites of the cabbage aphid at various localities may be of importance in regard to the correct time to destroy the overwintered Brassica plants. Such timing should allow for emergence of as many as possible of the primary parasites and as few as possible of the hyperparasites.

CHAPTER IX

FACTORS LIMITING THE EFFECT OF *APHIDIUS RAPAE* CURT. AS A CONTROLLING AGENT OF *BREVICORYNE BRASSICAE* (L.)

In the previous chapters some bionomical features of the cabbage aphid, *B. brassicae*, some elements of the bionomics and behaviour of its parasite *A. rapae* and the interactions of the two insects both under laboratory and field conditions were discussed. The decrease of the rate of parasitism in the field when the host density increased gave evidence that the parasite is not a main factor in regulating the population density of the aphid. A summary of the factors which are believed to be responsible for the parasite being at a disadvantage in comparison to its host is given below.

1. Difference in sex ratio of both host and parasite: It was shown that, with the exception of the last part of the season when sexual forms appear and gradually increase in numbers, adults of the cabbage aphid are exclusively virginoparae. Hence, during the main part of the season, the host population consists of females only. As for the parasite, on the other hand, during the same period the ratio of females was about 60% only.

2. The host deposits its progeny on the food plant and so theoretically all progeny produced by an aphid female has the same chance to live, develop and reproduce. The parasite deposits its eggs indiscriminately in parasitized and non-parasitized hosts. Hence superparasitism was found to occur under laboratory and field conditions either by the same parasite female or by different females. Only one parasite individual emerges from one parasitized aphid, regardless of the number of eggs deposited in that host. This means that, in contrast to the host, the mere nature of deposition of the parasite eggs forms an additional obligatory mortality factor for the parasite, which inevitably leads to waste of progeny.

3. Under conditions of the open outdoor insectary in both 1959 and 1960, a maximum of 14 generations of the aphid occurred per year as compared to a maximum of 11 generations of the parasite. The shortest duration of a generation of the aphid was 8–10 days, while it was 14–16 days for the parasite. Consequently, the rate of development of the host is higher than that of the parasite.

4. The parasite has a higher reproductive potential than the host. However, because the host does not need to search for an appropriate place to deposit its progeny while the parasite does, it is more probable for the host to effectuate its reproductive potential than for the parasite.

5. A parasite which can regulate the population density of the host must have the ability to increase its pressure on the host population as the latter increases in number. It has been shown, from laboratory experiments and from evidence of the rate of parasitism in the field, that *A. rapae* does not have this ability. Under high host densities it was shown that the rate of parasitism decreases, instead of increases. This trend may be due partly to the exhaustion of the egg supply of some of the parasite females and partly to the behaviour of those females in searching and ovipositing. The periods of "inactivity" between successive periods of oviposition gradually increase when oviposition is inten-

sified. Hence, the rate of oviposition of a female parasite per unit of time does not increase in proportion to the increase of host density.

This means that the properties of the parasite do not allow it to regulate the numbers of the host when the population density of the host is very high.

6. Another factor related to the high host population density is of importance. It is well accepted by now that at least one of the factors responsible for the appearance of the alate forms is crowding and grouping (REINHARD, 1927; SCHAEFFER, 1938; BONNEMAISON, 1951; BROADBENT, 1953). Consequently a high population density of the aphid leads to a higher proportion of alates. It has been experimentally proven earlier in this paper that both alate advanced nymphs and adults are less preferred for oviposition by the parasite than apterae. It was also shown that even if the adult alatae are encountered by the parasite, they are generally rejected. This means that, other factors being equal, the rate of parasitism decreases with an increase of the proportion of alatae.

Since the occurrence of a high host density leads to the appearance of alate viviparae which in turn leads to a decrease of the rate of parasitism, this constitutes a case where the mortality factor is "inversely density dependent" (SOLOMON, 1949).

7. Parasitized hosts are not necessarily a total loss for the host population. It has been shown earlier that, depending on the host stage parasitized, a varying fraction of its reproductive capacity is lost. In an extreme case, when the host is parasitized late enough in the adult stage, it will be able to deposit all its nymphs.

8. The hyperparasites play a very important role in reducing the population of the primary parasite. In 1959 only about 26% of the collected mummified cabbage aphids yielded the primary parasite *A. rapae* whereas 58% yielded secondary (or tertiary) parasites. In 1960 only 16% of the mummies yielded the primary parasite, whereas about 63% yielded the secondary or tertiary parasites. The high intensity of hyperparasitism during the main season of the aphid infestation renders this factor even more injurious.

In conclusion, it may be stated that, according to the data obtained in the present study in The Netherlands, several factors greatly diminish the effectiveness of the parasite *Aphidius rapae* Curtis as a mortality factor able to regulate the populations of the cabbage aphid, *Brevicoryne brassicae* (L.).

SUMMARY

CHAPTER I. INTRODUCTION

In The Netherlands, it has been demonstrated before that, when certain insecticides were applied to control the cabbage aphid, *Brevicoryne brassicae* (L.), the infestation soon increased again after a sharp drop in aphid abundance. In the non-treated plots kept for check, the aphid infestation remained almost constant. On the basis of these results the present work was initiated mainly to contribute towards a better knowledge of:

1. The natural population densities of the cabbage aphid in The Netherlands.
2. The role played by natural mortality factors in limiting these densities.
3. The influence of the parasite *Aphidius* (*Diaeretiella*) *rapae* (Curt.) on the abundance of the aphid.

The study was made during the years 1959, 1960 and part of 1961.

CHAPTER II. SEASONAL HISTORY AND REPRODUCTIVE POTENTIAL OF THE CABBAGE APHID, *Brevicoryne brassicae* (L.)

Some elements of the bionomics and seasonal history of the aphid are given. The aphid overwinters as winter eggs on cruciferous plants kept for seed. In the experimental field near Wageningen there was an average of 5644 winter eggs per brussels sprout plant in 1959–1960, and of 2.3 eggs per plant in 1960–1961. Hatching of eggs started during the first week of March in 1959 and one week earlier in 1960. About 60% and 30% of the eggs failed to hatch in the two years, 1959 and 1960, respectively. High mortality occurred within the newly hatched fundatrices because of alternated periods of high and low temperatures (maximum 19 °C, minimum −6 °C). Generations overlapped; a minimum of 4 and a maximum of 14 generations occurred in each of the two years 1959 and 1960. Duration of generations ranged between a minimum of 8–10 days and a maximum of 37–56 days. Under different experimental conditions apterous virginoparae deposited an average of 26–29 nymphs whereas alate virginoparae deposited an average of 13–23 nymphs.

CHAPTER III. SEASONAL COURSE OF ABUNDANCE OF *Brevicoryne brassicae* (L.) IN THE FIELD

The seasonal trend of populations of aphids infesting four different crops in the temperate zone is reviewed. The general trend indicated an early increase in numbers followed by a rapid decline. Another increase may occur later if weather conditions are favourable. Several abiotic and biotic factors were presumed to cause the mid-season decline.

In 1959 and 1960, the seasonal abundance of the cabbage aphid in The Netherlands was studied. Two fields of brussels sprouts in 1959 and one field in 1960 were sampled each week in summer and autumn in order to determine the population densities of the various stages of the aphid. The three-leaf method was used for the sampling. The results showed a general pattern of aphid abundance which fitted a bimodal curve with one maximum in July and another maximum

in September or October separated by a minimum in August or September. No striking difference occurred between 1959 and 1960 in the first peak of aphid abundance. In the autumn peak, however, aphid populations were extremely larger in 1959 than in 1960.

CHAPTER IV: ANALYSIS OF THE SEASONAL FLUCTUATIONS IN POPULATION DENSITY OF *Brevicoryne brassicae* (L.)

Evidence indicated that the decline in population density of the aphid was mainly due to actual mortality factors rather than to effects on reproduction or migration. Some of these mortality factors are discussed.

A. *Abiotic factors*

1. Temperature: No drastic change in temperature occurred, that might account for the mid-season decline. A higher average temperature in September 1959 than in September 1960 might have partly contributed to the difference in aphid abundance in autumn of the two years.
2. Precipitation: The year 1959 was remarkably drier than 1960. Extensive rainfall in 1960 is thought to affect the aphid abundance in autumn by encouraging the outbreak of a fungous disease and by preventing the flight of alatae.

B. *Biotic factors*

1. Entomophagous fungi: Outbreaks of a fungous disease were not encountered in 1959. In 1960, the disease was very abundant in late July and early August and appeared to be responsible for the aphid decline in that period.
2. Predators: *Coccinella septempunctata* L., Syrphids, mainly *Epistrophe balteata* Deg., and *Phaenobremia aphidovora* Rübs. were the main predators in the brussels sprout fields. There was evidence that predators contributed towards the mid-season decline in both years.
3. Parasites: The only primary parasite on *B. brassicae* in The Netherlands was found to be *Aphidius rapae* Curt.

CHAPTER V. THE BIONOMICS OF THE PARASITE *Aphidius* (*Diaeretiella*) *rapae* (CURT.)

The nomenclature of the parasite is discussed, with the conclusion that it should be named *Aphidius* (*Diaeretiella*) *rapae* (Curtis). However, for simplicity, the name *Aphidius rapae* is used in this work. Besides *B. brassicae*, it also parasitized *Myzus persicae* (Sulz.), but it preferred the former species. It is an internal parasite, and only one adult emerges from each individual host. Females constituted 60% of the field populations of the parasite. Longevity of adults ranged between one and two weeks. Under laboratory conditions an average of 83 eggs were deposited per female. The parasite hibernated as a last instar larva inside the mummified host and started emerging in considerable numbers in spring. Two peaks of emergence, one in April and one in May, occurred in 1960. Number of generations per year ranged between 6 to 11 in 1959 and 5 to 11 in 1960. Minimum duration of a generation ranged between 14 to 16 days whereas an overwintering generation might take several months.

Newly emerged female parasites could start ovipositing a few minutes after emergence. Only one egg was deposited per insertion. Oviposition took place in previously parasitized and in non-parasitized hosts indiscriminately, hence superparasitism occurred. The parasite seemed to contact the aphid at random. Periods of oviposition alternated with increasing periods of rest which might extend for several hours. When the parasite had the chance to oviposit in any of the different stages of the aphid, it parasitized more half-grown nymphs than any other stage, whereas the alate adults were the least parasitized. The parasite also preferred apterous to alate advanced nymphs for parasitism. This behaviour was partly responsible for the scarcity of the alate mummies.

Parasitism in different stages of the host affected both host and parasite. If the aphid was parasitized in the first or second nymphal instar, it mummified in the last nymphal instar. If it was parasitized in a later stage, it would develop to an adult before mummifying. Parasitism caused an increase of the duration of development of the host. If the host was parasitized early enough, its reproductive capacity was eliminated. If, on the other hand, it was parasitized as a fourth instar nymph or an adult, reproductive capacity could be maintained partly or totally. Generally parasitism in more advanced stages resulted in shorter durations of development and higher reproductive capacity for the parasite.

The relation between host density and rate of parasitism was found to be curvilinear. This phenomenon is explained by the exhaustion of the egg supply of some parasites and by the increase of rest periods of the ovipositing female at high host densities. This mode of parasitism rendered the parasite inefficient in regulating the numbers of the host when they are high.

CHAPTER VII. HOST-PARASITE INTERACTIONS IN THE FIELD

The rate of parasitism of the cabbage aphid by *A. rapae* was estimated once each week during the main season of infestation in the three brussels sprout fields near Wageningen. Two methods were used for the estimation: (1) Dissection of advanced nymphs and (2) proportion of average number per plant of sound mummies to total of advanced nymphs, adults, and mummies.

The results showed that the rate of parasitism was not governed by the population density of the host alone. It also showed that mortality due to parasitism constituted a small fraction of the total mortality of the aphid and that parasitism was not the main factor affecting the population changes of the aphid. However, parasitism was very high, 80–90%, during the second half of April 1960 on the first generation of the fundatrices infesting the overwintered sprout plants kept for seed.

CHAPTER VIII. HYPERPARASITES AS MORTALITY FACTORS OF *A. rapae*

Hyperparasites were found to be very important in reducing the efficiency of the primary parasite. *Charips ancylocera* Cam. was found to be the most important species of the hyperparasites, followed by *Asaphes vulgaris* Wlk., *Pachyneuron minutissimum* Fö., and *Lygocerus aphidovorus* K. In 1959 out of

17,000 mummies of *B. brassicae* collected in the field, only 26% yielded *A. rapae*, whereas 58% yielded hyperparasites. In 1960, out of 8,000 mummies, 16% yielded *A. rapae* whereas 63% yielded hyperparasites.

Hyperparasites emerged in spring later than the primary parasite. This fact is one of the reasons for the high rate of parasitism early in the season.

CHAPTER IX. FACTORS LIMITING THE EFFECT OF *A. rapae* CURT. AS A CONTROLLING AGENT OF *B. brassicae* (L.)

It is concluded that the effectiveness of the parasite, as a factor regulating the populations of the cabbage aphid, was greatly diminished by several factors. Most important of these factors were: The behaviour of the parasite during parasitism (which renders it less efficient when population density of the host is high), the detrimental effect of hyperparasites, and the circumstance that the parasite develops more slowly than the host.

SAMENVATTING

HOOFDSTUK I. INLEIDING

In Nederland is geconstateerd, dat na het gebruik van bepaalde insecticiden tegen de koolbladluis, *Brevicoryne brassicae* (L.), een sterke daling in bladluisdichtheid spoedig gevolgd kan worden door een belangrijke toename. Dit is aanleiding geweest tot het instellen van een diepgaand onderzoek gedurende de jaren 1959 en 1960, alsmede tijdens de eerste helft van 1961. Het doel was een beter inzicht te verkrijgen in:

1. de mate van optreden van de koolbladluis in het veld.
2. de betekenis van de natuurlijke sterftefactoren voor de aantalsregulatie van de bladluis.
3. de invloed van *Aphidius rapae* Curt., de enige in Nederland voorkomende parasiet van de koolbladluis.

HOOFDSTUK II. ONTWIKKELINGS- EN VOORTPLANTINGSVERMOGEN VAN DE KOOLBLADLUIS

Er worden in dit hoofdstuk enige gegevens verstrekt over de bionomie en de ontwikkeling van de bladluis. *B. brassicae* overwintert in het ei-stadium op Cruciferen, die voor de zaadproductie worden doorgekweekt. Op een proefveld met spruitkool bij Wageningen waren in 1959–'60 gemiddeld 5644 eieren per plant aanwezig, in 1960–'61 bedroeg dit gemiddelde 2,3 per plant. In 1959 kwamen de eieren gedurende de eerste week van maart uit, in 1960 verschenen de jonge luizen één week vroeger. In die jaren bleek, dat zich uit respectievelijk ongeveer 60 en 30% van de eieren geen larve ontwikkelde. Bovendien trad er een hoge sterfte op onder de jonge bladluizen (fundatrices) als gevolg van het afwisselend voorkomen van dagen met hoge temperaturen (max. 19 °C) en met lage temperaturen (min. –6 °C).

De generaties overlapten elkaar. Zowel in 1959 als in 1960 verschenen een minimum van 4 en een maximum van 14 generaties. De duur van de verschillende generaties variëerde van minimaal 8–10 dagen tot maximaal 37–56 dagen. Onder proefomstandigheden werden door aptere virginopare wijfjes gemiddeld 26–29 nymphen geproduceerd; alate wijfjes gaven gemiddeld 13–23 nakomelingen.

HOOFDSTUK III. TALRIJKHEID VAN DE KOOLBLADLUIS IN VERBAND MET HET JAARGETIJDE

De seizoenschommelingen in de populatie van bladluizen op vier verschillende gewassen, die in de gematigde streken voorkomen, worden besproken. De algemene tendentie is een toename in dichtheid vroeg in het jaar, gevolgd door een snelle afname. Een nieuwe toename kan daarna onder gunstige weersomstandigheden plaats vinden. Verschillende milieufactoren kunnen het afnemen van de bladluisbevolking in het begin van de zomer veroorzaken.

Voor het eigen onderzoek werd gedurende de zomer en herfst van 1959 en

1960 in enige velden spruitkool wekelijks de populatiedichtheid van de koolbladluis bepaald. Telkens werden van 50 planten 3 blaadjes onderzocht. Het verloop van de dichtheid bleek bimodaal te zijn: een eerste maximum lag in juli, een tweede maximum werd in september of oktober aangetroffen. Het eerste maximum vertoonde voor beide jaren geen significante verschillen; het herfstmaximum van 1959 was evenwel opvallend hoger dan dat van 1960.

HOOFDSTUK IV. ANALYSE VAN DE SEIZOENSCHOMMELINGEN IN DE POPULATIEDICHTHEID VAN DE KOOLBLADLUIS

De daling van de dichtheid in de zomer werd voornamelijk veroorzaakt door sterfte. De invloed van verminderde voortplantingscapaciteit of van migratie was van veel minder belang.

De volgende mortaliteitsfactoren worden besproken:

A. Abiotische factoren

1. Temperatuur. De sterke afname van de bladluispopulatie midden in het seizoen kan niet veroorzaakt zijn door plotseling optredende ongunstige temperaturen; een opvallende temperatuursverandering deed zich in deze periode n.l. niet voor. Tot de grotere talrijkheid van de koolbladluis in de herfst van 1959 in vergelijking met de herfstperiode van 1960 kan daarentegen de hogere temperatuur van september 1959 wél hebben bijgedragen.
2. Regenval. Het jaar 1959 was opvallend droger dan 1960. De overvloedige regenval gedurende 1960 heeft de toename van de koolbladluis in sterke mate beperkt door het optreden van een schimmelziekte. Bovendien werden de alatae-vluchten door de regen sterk belemmerd.

B. Biotische factoren

1. Schimmelziekte. In 1959 werden geen door een schimmelziekte aangetaste bladluizen waargenomen. In 1960 daarentegen heerste er een schimmelziekte eind juli en begin augustus, die de bladluispopulatie sterk deed verminderen.
2. Roofvijanden. *Coccinella septempunctata* L., diverse Syrphidae, in hoofdzaak *Epistrophe balteata* Deg., en *Phaenobremia aphidovora* Rübs. vormden de voornaamste roofvijanden. Zij droegen zowel in 1959 als in 1960 bij tot de afname van de bladluispopulatie in het midden van het seizoen.
3. Parasieten. De enige tot nu toe gevonden parasiet van de koolbladluis in Nederland is *Aphidius rapae* Curt.

HOOFDSTUK V. DE BIONOMIE VAN DE PARASIET *Aphidius rapae* CURT.

De juiste benaming van deze tot de familie Aphidiidae behorende parasiet is *Aphidius* (*Diaeretiella*) *rapae* (Curtis). Kortheidshalve wordt echter in dit proefschrift de naam *Aphidius rapae* gebruikt.

Behalve *B. brassicae* wordt ook, zij het in mindere mate, *Myzus persicae* (Sulz.) door deze sluipwesp geparasiteerd. *A. rapae* is een endoparasiet; slechts één parasiet ontwikkelt zich volledig in een bladluis. Zestig procent van de sluipwespen in het veld bestond uit wijfjes. De levensduur van de volwassen dieren bedroeg 1 2 weken. Onder laboratoriumomstandigheden werden gemiddeld 83 eieren per wijfje afgezet. In het veld overwintert de parasiet in het larve-

stadium binnen de gemummificeerde bladluis om vervolgens in het voorjaar uit te vliegen. In 1960 vertoonde de verschijningsperiode van de sluipwespjes twee maxima, n.l. in april en in mei. In 1959 en 1960 varieerde het aantal generaties respectievelijk van 6–11 en van 5–11. De minimale ontwikkelingsduur van een generatie bedroeg 14–16 dagen; de ontwikkeling van de overwinterende generatie neemt enkele maanden in beslag.

HOOFDSTUK VI. WISSELWERKINGEN TUSSEN WAARD EN PARASIET

Pas uitgekomen sluipwesp-wijfjes kunnen reeds na enkele minuten een bladluis(waard) beparasiteren. Met behulp van een legbuis wordt een waard aangestoken, waarbij slechts één eitje wordt binnengebracht. Wel kan de eiafzetting plaats vinden in een bladluis, die reeds door een andere sluipwesp beparasiteerd was. In dit geval vindt superparasitisme plaats. De sluipwesp maakt geen onderscheid tussen reeds geparasiteerde en niet-geparasiteerde bladluizen. Perioden van eiafzetting wisselen af met steeds langer wordende rustperioden van soms enkele uren.

Half volwassen bladluisnymphen worden boven alle andere stadia geprefereerd, terwijl gevleugelde wijfjes het kleinste aantastingspercentage vertonen. Ongevleugelde, goed ontwikkelde nymphen blijken geprefereerd te worden boven gevleugelde nymphen. Dit gedrag was één van de oorzaken van het schaarse voorkomen van gevleugelde mummies.

Het stadium, waarin de waard wordt beparasiteerd, blijkt van belang te zijn zowel voor de ontwikkeling van de parasiet als voor de verdere ontwikkeling van de waard zelf. Indien koolbladluis-nymphen in het eerste of tweede stadium beparasiteerd worden, ontwikkelen zij zich nog tot het laatste nymphestadium. Wanneer de bladluis in een later stadium wordt aangestoken, ontwikkelt hij zich tot een volwassen dier alvorens te mummificeren.

Parasitisme veroorzaakt een verlenging van de ontwikkelingsduur van de waard. Indien de waard vóór het vierde nymphe-stadium wordt aangetast, gaat het voortplantingsvermogen verloren. Dit vermogen blijft geheel of gedeeltelijk aanwezig, indien de bladluis in het vierde nymphe-stadium of eerst in het volwassen stadium wordt beparasiteerd. In het algemeen blijkt de totale ontwikkelingsduur van de parasiet zelf korter te zijn en diens voortplantingscapaciteit groter naarmate de ontwikkeling van de waard, op het moment waarop het ei wordt afgezet, verder gevorderd is.

Naarmate de waard-dichtheid toeneemt, vertoont het aantal eieren dat een *Aphidius*-wijfje afzet, een toename, die asymptotisch tot een maximum nadert. De verklaring hiervan is, dat bij een hoge bladluisdichtheid een toename van de rustperioden van het eileggende sluipwespwijfje optreedt en het eiproductievermogen geleidelijk uitgeput raakt. Dit feit draagt ertoe bij, dat *A. rapae* niet bij machte is een regulerende werking uit te oefenen ten tijde van het optreden van grote koolbladluis-aantallen.

HOOFDSTUK VII. WEDERZIJDSE BEÏNVLOEDING VAN WAARD EN PARASIET IN HET VELD

De mate waarin de koolbladluis geparasiteerd werd, is wekelijks nagegaan in de drie bij Wageningen gelegen velden met spruitkool. Hiertoe werd sectie

verricht op bladluisnymphen in hun latere ontwikkelingsstadia, terwijl tevens per plant de verhouding bepaald werd van het aantal niet geparasiteerde nymphen en volwassen dieren tot het aantal gemummificeerde luizen.

Het bleek, dat de parasiteringsgraad slechts zeer ten dele bepaald werd door de populatiedichtheid van de waard. Bladluissterfte als gevolg van parasitisme vormde slechts een betrekkelijk kleine fractie van de totale sterfte over het gehele jaar. Wel kan deze aantasting door *A. rapae* in bepaalde perioden hoog zijn. Gedurende de tweede helft van april 1960 was b.v. op overwinterde koolplanten 80–90% van de fundatrices geparasiteerd.

HOOFDSTUK VIII. DE BETEKENIS VAN DE HYPERPARASIETEN VOOR DE MORTALITEIT VAN *A. rapae*

Hyperparasieten bleken in zeer belangrijke mate op te treden. De belangrijkste hyperparasiet is *Charips ancylocera* Cam. Andere hyperparasieten zijn *Asaphes vulgaris* Wlk., *Pachyneuron minutissimum* Fö. en *Lygocerus aphidovorus* K. Van 17,000 koolbladluis-mummies, verzameld in 1959, bleek 26% de primaire parasiet op te leveren, terwijl uit 58% van deze mummies hyperparasieten te voorschijn kwamen. In 1960, toen 8,000 mummies onderzocht werden, waren deze percentages respectievelijk 16% en 63%.

In het voorjaar verschijnen de hyperparasieten later dan *A. rapae*. Dit is één van de oorzaken voor de hoge graad van *A. rapae*-aantasting in deze periode.

HOOFDSTUK IX. FACTOREN DIE DE WAARDE VAN DE PRIMAIRE PARASIET *A. rapae* VERMINDEREN

Uit het onderzoek is duidelijk geworden, dat aan *A. rapae* als beperkende factor voor de koolbladluisontwikkeling geen grote waarde kan worden toegekend. Het gedrag van de parasiet bij hoge luisdichtheden (Hoofdstuk VI) is weinig efficiënt. De geringere ontwikkelingssnelheid van *A. rapae* in vergelijking met de koolbladluis vormt eveneens een nadeel. Hyperparasitisme (Hoofdstuk VIII) doet verder afbreuk aan de betekenis van de parasiet *A. rapae*.

ACKNOWLEDGMENTS

The present work was carried out in the Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek (I.P.O.) in Wageningen, The Netherlands. The work was conducted under the supervision of Professor Dr. J. de Wilde, Professor of Entomology, and Professor Dr. H. Klomp, Professor of Zoology, in the Agricultural University of Wageningen. The writer wishes to express his deepest gratitude for their guidance, valuable advice and stimulating criticism throughout the work and for reading and correcting the manuscript.

The writer feels greatly indebted to Dr. J. G. ten Houten, Director of "I.P.O." for his sincere hospitality and for his unfailing enthusiasm throughout the course of this work. Dr. H. J. de Fluiter, deputy-director of "I.P.O." and head of the Department of Entomology, is wholeheartedly thanked for his deep interest in the study, useful suggestions and for all the help and time he freely gave throughout the work and during the preparation of the manuscript. Thanks are also due to the staff members and personnel of "I.P.O." who never failed to help in every possible way.

The writer is much indebted to Prof. Dr. L. J. Alexander, Ohio Agricultural Experiment Station and Ohio State University, U.S.A., for the very thorough reading and correcting of the English text. Special thanks are extended to Mr. D. Hille Ris Lambers, Bennekom, for his valuable discussions, helpful suggestions and free access to his library. Dr. J. B. M. van Dinther was very kind to prepare the Dutch summary and the writer is much obliged to him. Sincere gratitude is due to Mr. C. van den Anker, Statistician, "I.P.O.", for his continuous help and advice in the design of the experiments and for the statistical analysis.

The writer also wishes to express his thanks to the artist Mr. M. P. van der Schelde, for preparing the figures, to Mr. A. Th. B. Rast for his help during part of the work and for using some data of his unpublished report, and to Miss A. Zeegers for her assistance in some of the experiments.

REFERENCES

ANONYMUS, – 1954. Distribution Maps of Insect Pests. Commonwealth Institute of Entomology. Ser. A, 37.

ANONYMUS, – 1956. Jaarverslag Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek: 43–44.

ANSCOMBE, F. J., – 1948. On estimating the population of Aphids in a potato field. Ann. appl. Biol. 35: 567–571.

BARNES, H. F., – 1931. Notes on the parasites of the cabbage aphid, Brevicoryne brassicae L. Ent. mon. Mag. 67: 55–57.

BILANOVS'KII, I. D., – 1938. (Notes on the economic importance of some parasitic insects) Trav. Mus. zool. Acad. Sci. Ukr. 21–22: 167–169 (Rev. appl. Ent. 26: 302–303).

BODENHEIMER, F. S. & E. SWIRSKI, – 1957. The Aphidoidea of the Middle East. The Weizmann Science Press of Israel, Jerusalem.

BONNEMAISON, L., – 1948. Influence des prédateurs et des parasites sur l'apparition des formes ailées de Brevicoryne brassicae L. C. R. Ac. Sc., T. 227: 1415–1417.

BONNEMAISON, L., – 1951. Contribution à l'étude des facteurs provoquant l'apparition des formes ailées et sexuées chez les Aphidinae. Thèse Fac. Sci. Univ. de Paris: 1–380.

BÖRNER, C. & K. HEINZE, – 1957. Handbuch Pflanzen-Krankheiten. V. 5. 4. Berlin & Hamburg.

BROADBENT, L., – 1948. Methods of recording aphid populations for use in research on potato virus diseases. Ann. appl. Biol. 35: 551–566.

BROADBENT, L., – 1949. Factors affecting the activity of alatae of the aphids Myzus persicae (Sulzer) and Brevicoryne brassicae L. Ann. appl. Biol. 36: 40–62.

BROADBENT, L., – 1953. Aphids and virus diseases in potato crops. Biol. Rev. 28: 350–380.

BROADBENT, L. & M. HOLLINGS, – 1951. The influence of heat on some aphids. Ann. appl. Biol. 38: 577–581.

BURNETT, T., – 1951. Effects of temperature and host density on the rate of increase of an insect parasite. Amer. Nat. 85: 337–352.

BURNETT, T., – 1958. Effect of host distribution on the reproduction of Encarsia formosa Gahan. Can. Ent. 90: 179-191.

CAMPBELL, R. E., – 1941. An unusual infestation of cabbage aphids, Aphis brassicae L. J. econ. Ent. 34: 477.

CHURCH, B. M. & A. H. STRICKLAND, – 1954. Sampling cabbage aphid populations on brussels sprouts. Plant Path. 3: 76–80.

DE BACH, P. & H. S. SMITH, – 1941. The effect of host density on the rate of reproduction of entomophagous parasites. J. econ. Ent. 34: 741–745.

DUNN, J. A. & D. W. WRIGHT, – 1955. Population studies of the pea aphid in East Anglia. Bull. ent. Res. 46: 369–387.

ELZE, D. L., – 1944. Observations on Brachycolus brassicae L. in Palestine. Bull. Soc. Fouad Ent. 28: 109–112.

EMPSON, D. W., – 1952. Survey of cabbage aphid populations on brussels sprouts, 1946–1951. Plant Path. 1: 35–38.

ESSIG, E. O., – 1948. The most important species of aphids attacking cruciferous crops in California. Hilgardia. 18: 405–422.

EVANS, A. C., – 1938. Physiological relationships between insects and their host plants. I. The effect of the chemical composition of the plant on reproduction and production of winged forms in Brevicoryne brassicae L. Ann. appl. Biol. 25: 558–572.

EVENHUIS, H. H., – 1958. Een oecologisch onderzoek over de appelbloedluis, Eriosoma lanigerum (Hausm.) en haar parasiet Aphelinus mali (Hald.) in Nederland. T. Pl.-ziekt. 64: 1–103.

FLANDERS, S. E., – 1935. Effect of host density on parasitism. J. econ. Ent. 28: 898–900.

FLUITER, H. J. DE, – 1954. Phaenologische waarnemingen betreffende de aardbeiknotshaarluis, (Pentatrichopus fragaefolii Cock.), in Nederland. Ent. Ber. 15: 94–98.

FLUITER, H. J. DE, – 1959. Die Bekampfung von Brevicoryne brassicae L. in Rosenkohl mit organischen Phosphorverbindungen. IV. Intern. Pflanzensch. Kongress, Hamburg. 1: 787–793.

GAHAN, A. B., – 1910. Some synonymy and other notes on Aphidiinae. Proc. ent. Soc. Wash. 12: 179–189.

GEORGE, K. S., – 1957. Preliminary investigations on the biology and ecology of the parasites and predators of Brevicoryne brassicae L. Bull. ent. Res. 48: 619–629.

GOURLAY, E. S., – 1930. Some parasitic Hymenoptera of economic importance in New Zealand. N. Z. J. Sci. Tech. 11: 339–343. (Rev. appl. Ent. 18: 428–429).
HAFEZ, M., – 1960. Some biotic factors affecting the population of the cabbage aphid, Brevicoryne brassicae L., in The Netherlands in 1959. Meded. XIIe Symp. Fytofarm. Fyt., Gent, 1347–1350.
HERRICK, G. W. & J. W. HUNGATE, – 1911. The cabbage aphis, Aphis brassicae L. Agric. Exp. Sta. Cornell Bull. 717–746.
HOOF, H. A. VAN, – 1954. Enkele gegevens over de melige koolluis (Brevicoryne brassicae L.) in het Geestmerambacht, en zijn bestrijding. T. Pl.-ziekt. 60: 131–135.
JOHNSON, B., – 1958. Influence of parasitization on form determination in aphids. Nature, Lond. 181: 205–206.
JOHNSON, B., – 1959. Effect of parasitization by Aphidius platensis Brèthes on the developmental physiology of its host, Aphis craccivora Koch. Ent. exp. & appl. 2: 82–99.
KENNEDY, J. S. & C. O. BOOTH, – 1951. Host alternation in Aphis fabae Scop. I. Feeding preferences and fecundity in relation to the age and kind of leaves. Ann. appl. Biol. 38: 25–64.
KENNEDY, J. S., A. IBBOTSON & C. O. BOOTH, – 1950. The distribution of aphid infestation in relation to leaf age. I. Myzus persicae (Sulz.) and Aphis fabae Scop. on spindle trees and sugar-beet plants. Ann. appl. Biol. 37: 651–679.
KENNEDY, J. S. & H. L. G. STROYAN, – 1959. Biology of aphids. Ann. Rev. Ent. 4: 139–160.
KLOMP, H., – 1958. On the theories of host-parasite interactions. Arch. Néerl. Zool. 13: 134–145.
LEES, A. D., – 1959. The role of photoperiod and temperature in the determination of parthenogenetic and sexual forms in the aphid Megoura viciae Buckton – I. The influence of these factors on apterous virginoparae and their progeny. J. Ins. Physiol. 3: 92–117.
MACKAUER, M., – 1961 (In press). Die Gattungen der Familie Aphidiidae und ihre verwandtschaftliche Zuordnung (Hymenoptera). Beitr. zur Ent. 11.
MARKKULA, M., – 1953. Biologisch-Ökologische Untersuchungen über die Kohlblattlaus, Brevicoryne brassicae L. Ann. Zool. Soc. zool-bot. Fenn. "Vanamo" 15: 1–113.
MELANDER, A. L. & M. A. YOTHERS, – 1915 & 1917. Twenty fifth and twenty sixth annual reports for the years ended 30th June 1915 & 30th June 1916, Division of Zoology and Entomology, Washington State Coll. Agric. Exp. Sta., Pullman. 127: 30–38 & 136: 35–42 (Rev. appl. Ent. 5: 412–413).
MUESEBECK, C. F. W., K. V. KROMBEIN & H. K. TOWNES, – 1951. Hymenoptera of America North of Mexico. U.S. Dep. Agr. Monog. 2, Washington.
MULLER, F. P., – 1952. Der jahreszeitliche Massenwechsel der grünen Pfirsichblattlaus (Myzodes persicae Sulz.). Nachrbl. dtsch. Pflschdnst., 6: 28–32.
NEWTON, H. C. F., – 1934. Insect pests at Rothamsted and Woburn 1932–1933. Rep. Rothamsted exp. Sta. 1933: 51–53 (Rev. appl. Ent. 23: 82).
NICHOLSON, A. J., – 1933. The balance of animal populations. J. anim. Ecol. 2: 132–178.
PETHERBRIDGE, F. R. & J. E. M. MELLOR, – 1936. Observations on the life history and control of the cabbage aphis, Brevicoryne brassicae L. Ann. appl. Biol. 23: 329–341.
PETHERBRIDGE, F. R. & D. W. WRIGHT, – 1938. The Cabbage Aphis, Brevicoryne brassicae L. J. Minist. Agric. 45: 140–148.
PICARD, F., – 1919. Description d'un Cynipide aphidiphage nouveau (Alloxysta kiefferi, sp. n.), parasite du Puceron de la betterave. Bull. Soc. ent. France 13: 238–240 (Rev. appl. Ent. 7: 487).
REINHARD, H. J., – 1927. The influence of parentage, nutrition, temperature and crowding on wing production in Aphis gossypii Glover. Bull. Tex. Agric. Exp. Sta. 353: 1–19.
RIPPER, W. E., – 1944. Biological control as a supplement to chemical control of insect pests. Nature, Lond. 153: 448–452.
SCHAEFFER, C. W., – 1938. Physiological conditions which produce wing development in the pea aphid. J. agric. Res. 57: 825–841.
SCHLINGER, E. I. & J. C. HALL, – 1959. A synopsis of the biologies of three imported parasites of the spotted alfalfa aphid. J. econ. Ent. 52: 142–144.
SCHLINGER, E. I. & J. C. HALL, – 1960. The biology, behaviour, and morphology of Praon palitans Muesebeck, an internal parasite of the spotted alfalfa aphid, Therioaphis maculata (Buckton). Ann. ent. Soc. Amer. 53: 144–160.
SEDLAG, U., – 1957/58. Untersuchungen über Bionomie, Anatomie und Massenwechsel von Diaeretus rapae Curt. Wiss. Ztschr. d. Ernst Moritz Arndt-Univ. Mathem.-naturw. Reihe 3/4: 1–2.

SEDLAG, U., – 1958a. Beobachtungen über das Auftreten der Kohlblattlaus (Brevicoryne brassicae L.), im Sommer 1957. Nachrbl. dtsch. Pflschdnst. 12: 73–77.
SEDLAG, U., – 1958b. Untersuchungen über Bionomie und Massenwechsel von Diaeretus rapae (Curt.). Trans. I. Int. Conf. Insect Pathology and Biol. Control, Praha: 367–373.
SMITH, C. F., – 1944. The Aphidiinae of North America. Ohio State Univ., Contr. Zool. Ent. 6. Columbus, Ohio.
SOLOMON, M. E., – 1949. The natural control of animal populations. J. anim. Ecol. 18:1–35.
SPENCER, H., – 1926. Biology of the parasites and hyperparasites of aphids. Ann. ent. Soc. Amer. 19: 119–157.
STARY, P., – 1958. Some problems connected with the research of Aphidiinae (Hym., Braconidae), as natural enemies of aphids with regard to their utilization for the purpose of biological control. Trans. I. Int. Conf. Insect Pathology and Biol. Control, Praha: 537–540.
STARY, P., – 1960. The generic classification of the Family Aphidiidae. Acta Soc. ent. Cechosl. 57: 238–252.
STRICKLAND, A. H., – 1957. Cabbage aphid assessment and damage in England and Wales 1946–1955. Pl. Path. 6: 1–9.
STRICKLAND, E. H., – 1916. Control of cabbage aphis by parasites in Western Canada. Proc. B. C. ent. Soc. Victoria, ent. Ser. 9: 84–88.
TINBERGEN, L. & H. KLOMP, – 1960. The natural control of insects in pine woods. II. Conditions for damping of Nicholson oscillations in parasite-host systems. Arch. Néerl. Zool. 13: 344–379.
TODD, D. H., – 1958. Incidence and parasitism of insect pests of cruciferous crops in Hawke's Bay, Wairarapa, and Manawatu, 1955–56. N. Z. J. Sci. Tech. 38: 720–727. (Rev. appl. Ent. 46: 372–373).
ULLYETT, G. C., – 1938. The species of Aphidius (Aphidiinae: Braconidae) as parasites of aphids in South Africa. South Africa Dept. Agric. & Forestry Bull. 178: 5–28.
ULLYETT, G. C., – 1949. Distribution of progeny by Chelonus texanus Cress. Can. Ent. 81: 25–44.
VARLEY, G. C., – 1947. The natural control of population balance in the knapweed gall-fly (Urophora jaceana). J. anim. Ecol. 16: 139–187.
VEVAI, E. J., – 1942. On the bionomics of Aphidius matricariae Hal., a Braconid parasite of Myzus persicae Sulz. Paras. 34: 141–151.
WHEELER, E. W., – 1923. Some Braconids parasitic on aphids and their life history. Ann. ent. Soc. Amer. 16: 1–29.
WOLDA, H., – 1956 (See Anonymus 1956).

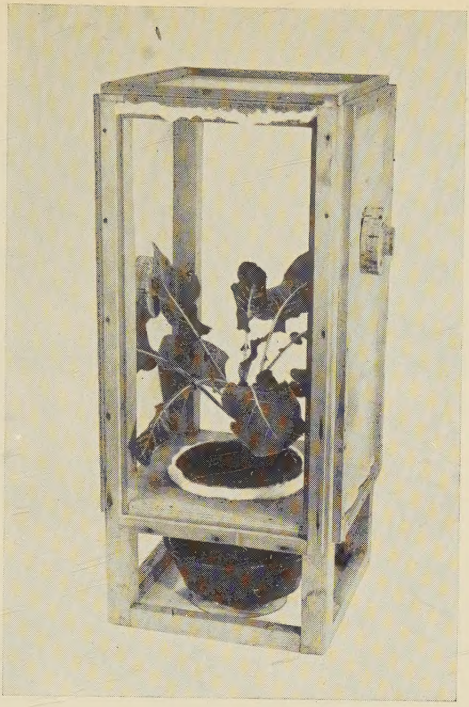


PLATE 1, A. Cage for rearing *B. brassicae* and *A. rapae* on a potted plant

PLATE 1, B. Glass dishes for rearing *B. brassicae* and *A. rapae* on cut leaves

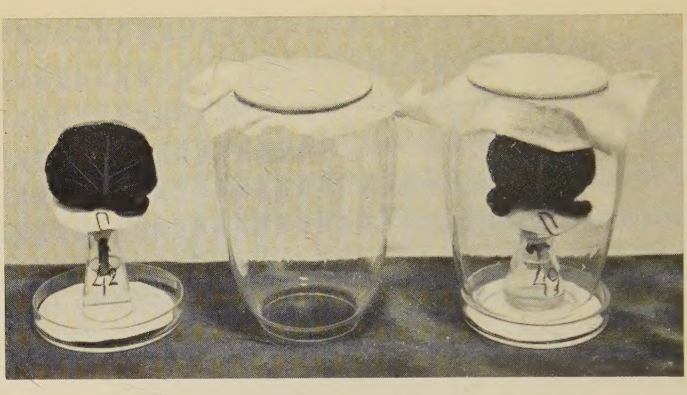


PLATE 2, A. Lamp glasses for rearing *B. brassicae* on cut leaves

a b c d

PLATE 2, B. Mummies of *B. brassicae*
a, apterous mummies; b & c, mummies with reduced wing pads; d, mummies with fully developed wings